

*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

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2023



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Современный инфекционный эндокардит (ИЭ) по-прежнему характеризуется высокой заболеваемостью – 1,5-11,6 на 100 тыс. человек (Selton-Suty C. и др., 2012; Cresti A. и др., 2017) и летальностью 16-33% (Тюрин В.П. и др., 2012; Моисеев В.С. и др., 2018; Habib G. и др., 2019).

Хирургическое лечение ИЭ требуется почти в половине случаев (Шевченко Ю.Л. и др., 2014; Habib G. и др., 2015; Habib G. и др., 2019). 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 (Habib G. и др., 2015). 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 (Munoz P. и др., 2008; Lamas C.C. и др., 2016). Ранее было показано преимущество полимеразной цепной реакции (ПЦР-исследования) по сравнению с МБИ в крови и тканях у пациентов с ИЭ (Котова Е.О. и др., 2016; Fournier P.E. и др., 2017; Halavaara M. и др., 2019; Armstrong C. и др., 2021), при этом сравнение МБИ и ПЦР-исследования представлено в единичных малокогортных зарубежных исследованиях с преимущественным изучением тканей клапанов, продемонстрировавших большую диагностическую эффективность ПЦР по сравнению с МБИ (Fournier P.E. и др., 2017; Peeters V. и др., 2017; Halavaara M. и др., 2019; Armstrong C. и др., 2021). 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% (Munoz P. и др., 2008).

Особую роль у пациентов с ИЭ может играть формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в вегетациях и пораженных клапанах сердца, которые могут вызывать повреждение окружающих тканей и усиливать провоспалительную реакцию (Brinkmann V. и др., 2004). Исследования НВЛ при сепсисе продемонстрировали их ассоциацию с плохим прогнозом и исходом (Ekaney M.L. и др., 2014; Li R.H.L. и др., 2018). 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 (Al-Salih G. и др., 2012; Jung C.J. и др., 2015).

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 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 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 актуальными 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.

### **Степень разработанности темы**

За последние 20 лет опубликован ряд работ, демонстрирующих низкую чувствительность традиционно применяемых микробиологических (культуральных) методов идентификации возбудителя ИЭ в крови и ткани клапана (Munoz P. и др., 2008; Котова Е.О. и др., 2016; Habib G. и др., 2019; Halavaara M. и др., 2019; Демин А.А. и др., 2022). Отрицательные результаты МБИ крови отмечаются в 2-40% случаев, по отдельным данным – до 71% (Habib G. и др., 2015; Habib G. и др., 2019; Демин А.А. и др., 2022), а при исследовании тканей клапанов – в 74-94% случаев ИЭ (Morris A.J. и др., 2003; Halavaara M. и др., 2019; Armstrong C. и др., 2021).

Исследования, посвященные сравнению МБИ и ПЦР-исследований для идентификации этиопатогенетического агента ИЭ, представлены малым количеством зарубежных публикаций преимущественно ретроспективных (Voldstedlund M. и др., 2008; Halavaara M. и др., 2019), продемонстрировавших большую диагностическую эффективность ПЦР-исследования по сравнению с МБИ (Peeters B. и др., 2017; Halavaara M. и др., 2019; Armstrong C. и др., 2021). В целом, чувствительность ПЦР-исследования варьирует от 40 до 100% (Котова Е.О. и др., 2016; Peeters B. и др., 2017; Halavaara M. и др., 2019). В серии публикаций доказана превосходящая чувствительность ПЦР-исследования тканей резецированных клапанов по сравнению с МБИ крови и клапана (Kim M.S. и др., 2017; Halavaara M. и др., 2019; Armstrong C. и др., 2020). 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 (Brinkmann V. и др., 2004). Несмотря на прямую патофизиологическую связь образования НВЛ с инфекционным процессом,

исследования НВЛ при ИЭ ограничены только единичными экспериментальными данными на модели крыс, в которых показана их непосредственная роль в росте вегетаций (Al-Salih G. и др., 2012; Jung C.J. и др., 2015). 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.

**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.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Показано, что микробиологическое исследование крови и тканей клапана у оперированных пациентов обладает высокой частотой неубедительных (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.

**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.

### **Методы и методология исследования**

Проведено проспективное наблюдательное исследование. На первом этапе исследования проводился поиск и анализ данных научной литературы, посвященной чувствительности этиологических исследований при ИЭ и значению 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.

### Положения, выносимые на защиту:

1. 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%).

2. 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.

3. 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.

4. 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%).

5. 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).

**Внедрение результатов исследования 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.** 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 имени Патриса Лумумбы» и сотрудников ГБУЗ ГКБ имени В.В. Виноградова ДЗМ. Материалы диссертации представлены на Европейском кардиологическом конгрессе (2021), 31-ом Европейском конгрессе клинической микробиологии и инфекционных заболеваний ECCMID (2021), Российском национальном конгрессе кардиологов (2021, 2022), Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Кардиология на марше 2022» (2022), VI Съезде молодых терапевтов Российского национального конгресса «Человек и лекарство-2022» (2022), Национальном конгрессе с международным участием «Сердечная недостаточность» (2022), Национальном конгрессе терапевтов (2021, 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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Работа состоит из двух частей. Первая часть представляет собой проспективное исследование эффективности комплексной этиологической диагностики ИЭ в крови и тканях пораженных клапанов (микробиологические исследования, ПЦР-исследование), включающее 52 оперированных пациента с активным ИЭ (критерии Дюка 2015), госпитализированных в кардиохирургический стационар (г. Москва). В качестве группы контроля включено 50 оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ,



соответствующих по возрасту и полу. 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 и МК, n (%)	8 (15,4)
МК и ТК, n (%)	1 (1,9)
АК, МК и ТК, n (%)	1 (1,9)
Сердечно-сосудистые заболевания, n (%)	35 (67,7)
Хроническая болезнь почек, n (%)	7 (13,5)
Инсульт/транзиторная ишемическая атака в анамнезе, n (%)	4 (7,7)
Сахарный диабет 2 типа, n (%)	7 (13,5)
Хроническая обструктивная болезнь легких/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]

Первичный ИЭ отмечался у 42,3% (n=22) пациентов. В структуре вторичного ИЭ преобладали дегенеративные пороки сердца, так же, как и у оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (Таблица 2).

Таблица 2 – Структура клапанного поражения у пациентов с ИЭ (n=52) и оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ из группы контроля (n=50)

Показатель	ИЭ	Оперированные с пороками без ИЭ
Дегенеративный порок сердца, n (%)	20 (38,5)	25 (50,0)
Двустворчатый АК, n (%)	7 (13,5)	18 (36,0)
Протезированный клапан, n (%)	3 (5,8)	1 (2,0)
Ревматический порок сердца, (n, %)	0 (0)	5 (10,0)
Пролапс МК тяжелой степени, (n, %)	0 (0)	1 (2,0)
Максимальный размер вегетации, мм (Me [IQR])	15,5 [10,0-20,0]	-
ФВ ЛЖ, % (M±SD)	60,8±6,4	56,7±9,4
EuroSCORE II, баллы Me [IQR]	3,1 [1,8-4,5]	1,8 [1,0-2,3]

Вторая часть работы заключалась в исследовании прогностического значения нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) у оперированных пациентов с ИЭ. В основную группу включено 52 оперированных пациента с ИЭ, группу контроля 1 составили 50 оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ, в группу контроля 2 включены 53 пациента с сепсисом различной этиологии. Группы пациентов не отличались по основным клинико-демографическим показателям.

Критериями включения были возраст старше 18 лет; достоверный или вероятный активный ИЭ (критерии Дюка, 2015); наличие информированного согласия на сбор обезличенных медицинских данных. Критериями исключения были неактивный ИЭ, небактериальный тромботический эндокардит, активные онкологические заболевания, пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию.

Оценивалась первичная конечная точка: комбинированный показатель (общая летальность от всех причин и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции); вторичная конечная 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).

Продолжительность дооперационного лечения рассчитывали от первого дня приема внутривенной антибактериальной терапии (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). Медиана дооперационной АБТ составила 27,5 [17,3-38,8] дней.

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. В раннем послеоперационном периоде осложнения наблюдались у 67,3% (n=35) пациентов с ИЭ, преимущественно острое повреждение почек (80,0%) и постперикардотомный синдром (42,9%), реже – гидроторакс (34,3%), снижение фракции выброса левого желудочка  $\geq 5\%$  (17,1%), сепсис (11,4%), рецидив ИЭ (2,9%). Госпитальная летальность составила 11,5%.

Показания для хирургического лечения при ИЭ преимущественно были представлены гемодинамическими причинами (96,2%, n=50), реже – профилактикой эмболических осложнений (51,9%, n=27) и неконтролируемым течением инфекции (44,2%, n=23). Более 2 показаний для операции отмечались у половины пациентов, более 3 показаний – у 21,2%.

### *Этиологическая диагностика ИЭ*

Всем оперированным пациентам с ИЭ и с пороками сердца без ИЭ выполнялась комплексная этиологическая диагностика параллельными МБИ крови и тканей резецированных клапанов и молекулярно-биологическими исследованиями (ПЦР или ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру) крови и тканей резецированных клапанов. Для пациентов с ИЭ также оценивалось МБИ крови, выполненное на предыдущих этапах, до госпитализации в кардиохирургический стационар. В

зависимости от микроорганизма, выявленного разными исследованиями (МБИ и ПЦР-исследование крови и ткани клапана), конкордантным результатом считалось совпадение результатов этиологической диагностики, не менее 2/4 исследований (МБИ и ПЦР-исследования крови/клапана). 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 исследованием. Секвенирование по Сэнгеру выполнялось только при положительном ПЦР-исследовании для уточнения вида возбудителя.

#### *Исследование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в крови*

Исследование НВЛ в крови было выполнено оперированным пациентам с ИЭ (n=46, 88,5%), оперированным пациентам по поводу пороков сердца, исключая ИЭ (группа контроля №1, n=50, 100%) и пациентам с сепсисом (группа контроля №2, n=53, 100%). Для проведения исследования НВЛ у пациентов проводилось взятие венозной крови, из которой выполнялись 3 мазка на предметных стеклах по типу «монослой» (Рисунок 1) с последующим анализом с помощью системы автоматической микроскопии МЕКОС-Ц2 (ООО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)», Россия) в соответствии с оригинальной авторской методикой (Патент РФ № 2712179 С1). Уровень НВЛ оценивался всем пациентам дважды (при поступлении и в динамике через 7 дней).

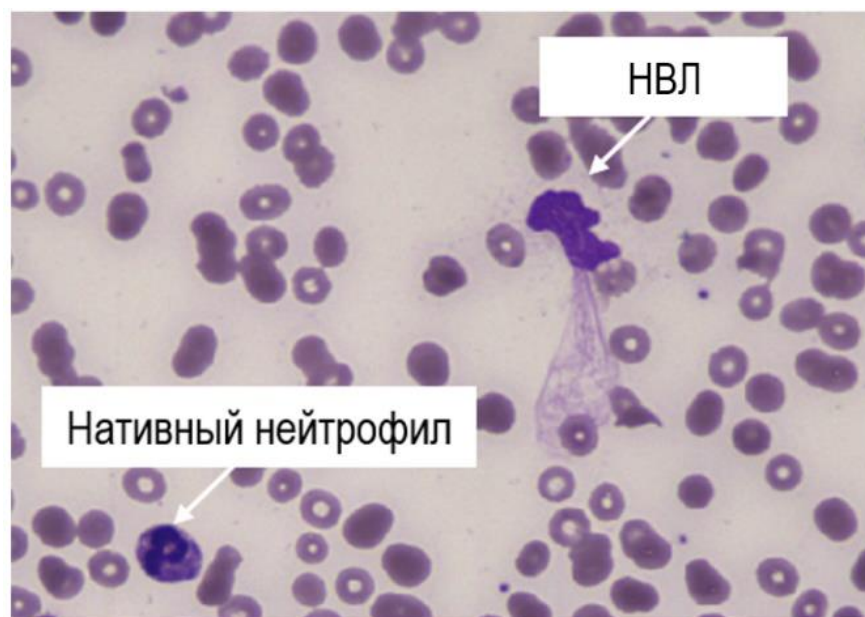


Рисунок 1 – Мазок крови оперированного пациента с ИЭ под микроскопом ( $\times 500$ )

Количественный подсчет НВЛ проводился по формуле:

$$НВЛ (\%) = N_{НВЛ} / (N_{нат.нейтроф} + N_{эф} + N_{базоф}) * 100\%$$

где НВЛ – количество нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ),  $N_{нат.нейтроф}$  – количество нативных нейтрофилов,  $N_{эф}$  – количество эозинофилов,  $N_{базоф}$  – количество базофилов.

#### *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) или для количественных переменных с ненормальным распределением рассчитывалась медиана (Me) и интерквартильный размах [IQR]. Качественные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Для оценки нормальности распределения применялся тест Колмогорова-Смирнова. Различия частот категориальных переменных оценивался с помощью критерия  $\chi$ -квадрат или точного критерия Фишера. Для сравнения количественных переменных в двух группах применялся t-тест Стьюдента или U-критерий Манна-Уитни. Отрицательная прогностическая ценность (ОПЦ) исследования 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) исследования 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 исследования 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). Во всех видах анализа статистически значимым считалось значение  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## Исследование результатов этиологических исследований ИЭ

При сравнении результатов МБИ и ПЦР-исследования на всех этапах диагностики конкордантные результаты получены в 42,3% (n=22) случаев, из них полное совпадение возбудителей отмечалось у 38,5% (n=20) (Таблица 3). 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 3 – Конкордантные результаты этиологических исследований у пациентов с ИЭ (n=52)

n (%)	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.galloyticus</i>	<i>Str.galloyticus</i>
	0	<i>S.aureus</i> + <i>CoNS</i>	0	<i>S.aureus</i> + <i>Str.galloyticus</i>	<i>S.aureus</i> + <i>Str.galloyticus</i>

Впервые при МБИ крови возбудитель установлен у 9,6% (n=5), при ПЦР-исследовании – у 21,2% (n=11), из них при исследовании ткани клапана у 6 пациентов (Таблица 4).

Таблица 4 – Впервые выявленные возбудители у пациентов с ИЭ (n=52)

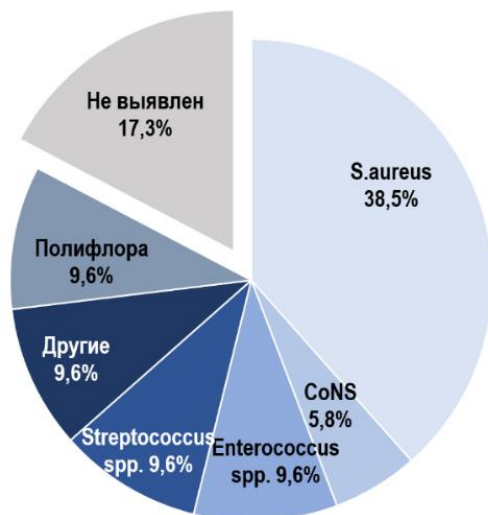
n (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ клапана	ПЦР крови	ПЦР клапана	Наиболее вероятный возбудитель
5 (9,6)	<i>S.aureus</i> (n=2)	0	0	0	<i>S.aureus</i> (n=2)
	<i>Ent.faecalis</i>	0	0	0	<i>Ent.faecalis</i>
	<i>Str.mitis</i>	0	0	0	<i>Str.mitis</i>

	<i>Str.mutans</i>	0	0	0	<i>Str.mutans</i>
11 (21,2)	0	0	<i>CoNS</i>	<i>CoNS</i>	<i>CoNS</i>
	0	0	<i>Bartonella 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>

Дискордантные результаты МБИ и ПЦР-исследования наблюдались у 13,4% (n=7) пациентов, как между двумя исследуемыми методами, так и внутри одного метода в зависимости от вида 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*). В одном случае 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 (Таблица 5).

Таблица 5 – Дискордантные результаты этиологических исследований у пациентов с ИЭ (n=52)

n (%)	МБИ крови (на всех этапах)	МБИ клапана	ПЦР крови	ПЦР клапана	Наиболее вероятный возбудитель
6 (11,5)	<i>CoNS</i>	0	0	0	0
	<i>CoNS</i>	0	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>
	0	<i>CoNS</i> (n=2)	0	<i>S.aureus</i> (n=2)	<i>S.aureus</i> (n=2)
	0	<i>CoNS</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>
	<i>S.aureus</i>	<i>CoNS</i>	0	<i>S.aureus</i>	<i>S.aureus</i>
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>



Комплексная этиологическая диагностика (МБИ и ПЦР-исследования крови/клапанов) позволила выявить возбудитель у 82,7% (n=43/52) оперированных пациентов с ИЭ. Этиологическая структура ИЭ по данным всех этиологических исследований представлена на Рисунке 2.

Рисунок 2 – Структура подтвержденных возбудителей у оперированных пациентов с ИЭ (n=52)

У оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ положительные результаты наблюдались только при МБИ ткани клапана у 8,0% (n=4) пациентов, представленные комменсалами кожных покровов *CoNS*, полифлорой или нетипичными для ИЭ возбудителями, что совместно с клиническими, гистологическими данными и отрицательными результатами параллельных МБИ крови и ПЦР-исследований крови и клапана позволило расценить данные результаты как контаминацию образцов на преаналитическом этапе (Таблица 6).

Таблица 6 – Анализ результатов этиологических исследований у оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ из группы контроля (n=50)

n (%)	МБИ крови	МБИ клапана	ПЦР крови	ПЦР клапана	Гистология клапана
46 (92,0)	0	0	0	0	0
4 (8,0)	0	<i>S.aureus</i>	0	0	0
	0	<i>CoNS+Str.parasanguinis</i>	0	0	0
	0	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0	0	0
	0	<i>CoNS</i>	0	0	0
Положительно, n (%)	0 (0)	4 (8,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
из них контаминация, n (%)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

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 хирургический стационар с 42,3% (n=22) до 17,3% (n=9) ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 3). МБИ 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, инициированной в предыдущие госпитализации. Лучшие результаты показаны в отношении ПЦР-исследования тканей клапанов.

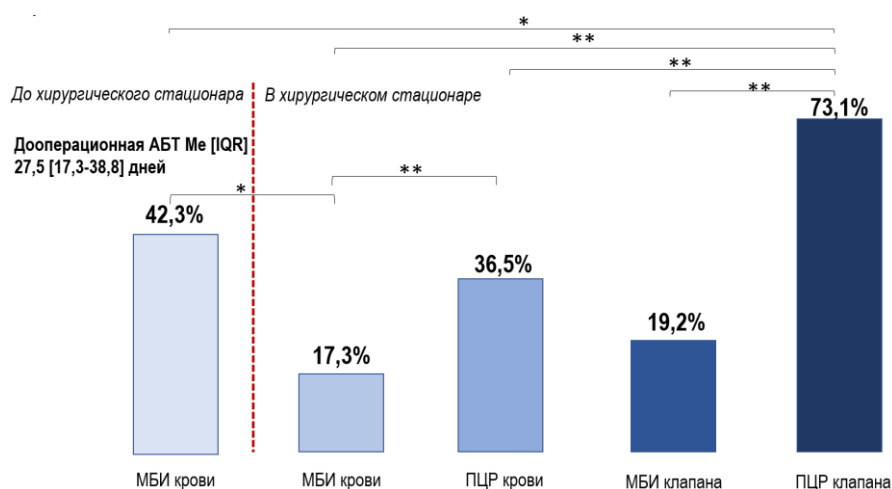


Рисунок 3 – Чувствительность микробиологического и ПЦР-исследований в зависимости от времени выполнения

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

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  $\geq$  29 дней (n=23, 44,2%). 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 чувствительность [0% и 0%, против 30,4% и 73,9%,  $p < 0,01$ , соответственно] (Таблица 7).

Таблица 7 – 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)	$p < 0,01^{1-4}$ $p < 0,01^{2-4}$ $p < 0,01^{3-4}$
$\geq 29$ дней	23	<b>0 (0)*</b>	<b>0 (0)*</b>	<b>7 (30,4)</b>	<b>17 (73,9)</b>	$p < 0,01^{1-4}$ $p < 0,01^{1-3}$ $p < 0,01^{2-3}$ $p < 0,01^{2-4}$ $p < 0,01^{3-4}$
Итого, n	52	9 (17,3)	10 (19,2)	19 (36,5)	38 (73,1)	

Примечание – \*  $p < 0,01$  – значимость различий между группой с АБТ  $< 29$  дней.

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 4, Таблица 8).

Таблица 8 – 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



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 4, Таблица 8).

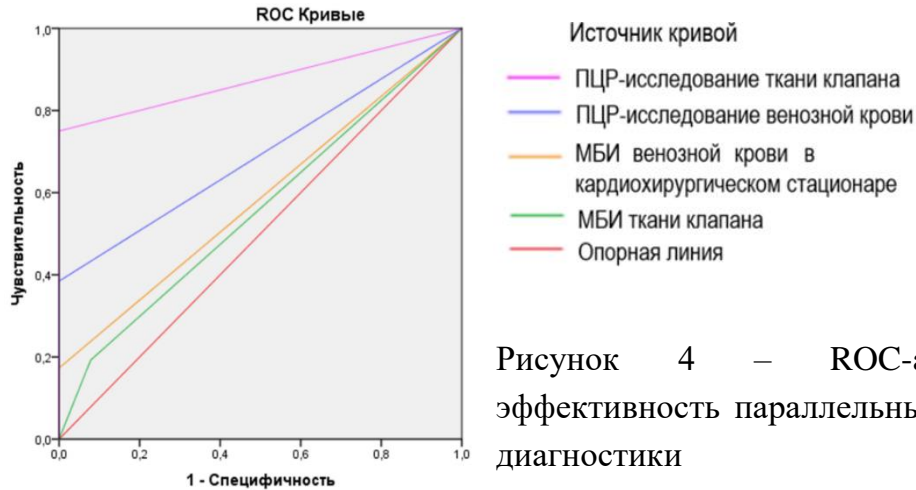


Рисунок 4 – ROC-анализ: диагностическая эффективность параллельных методов этиологической диагностики

*Прогностическая ценность наличия и количества НВЛ в крови у оперированных пациентов с ИЭ*

Внутригрупповых различий при исследовании уровня НВЛ при поступлении (НВЛ 1) и в динамике через 7 дней (НВЛ 2) отмечено не было, однако уровень НВЛ в динамике был значимо выше у оперированных пациентов с ИЭ и в группе сепсиса по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ (группа контроля 1) (Таблица 9).

Таблица 9 – Результаты исследования НВЛ в крови при поступлении и в динамике в исследуемых группах

Группа	НВЛ 1, Ме [IQR]	НВЛ 2, Ме [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 пациенты с пороками сердца без ИЭ	3,4 [1,7-6,9]	2,9 [1,1-4,3]

Примечание – \* $p < 0,05$  – значимость различий по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ.

У оперированных пациентов с ИЭ и внутрисердечными осложнениями (абсцесс/фистула/перфорация клапана, увеличение регургитации/вегетаций, отрыв хорд, дисфункция протеза), уровень НВЛ при поступлении был значимо выше, чем у пациентов с ИЭ, без данных осложнений ( $p < 0,05$ ) (Таблица 10). 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 10).

Таблица 10 – Результаты исследования связи НВЛ с осложнениями ИЭ в до- и послеоперационном периоде (n=46)

Признак	НВЛ1 Ме [IQR]		НВЛ2 Ме [IQR]	
	есть признак	нет признака	есть признак	нет признака
Эмболические осложнения	4,8 [0,4-28,5]	4,2 [0,3-25,1]	-	-
Внутрисердечные осложнения	4,8[0,4-28,5]	1,3 [0,3-6,2]*	-	-
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]**
Снижение ФВ ЛЖ (≥5%)	-	-	17,1 [2,0-26,6]	4,0 [1,0-24,6]*
Сепсис	-	-	12,6 [5,2-18,2]	3,0 [0,6-25,6]**
Внутрибольничная летальность	-	-	18,2 [5,2-26,6]	4,0 [1,0-24,6]***

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

Уровень НВЛ у пациентов, имевших события из первичной комбинированной конечной точки [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 11).

Таблица 11 – 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 оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и пациентами с сепсисом

Показатель	ИЭ с событиями из первичной конечной точки (1)	ИЭ без событий из первичной конечной точки (2)	Оперированные с пороками сердца без ИЭ (3)	Сепсис (4)	p
НВЛ 1, Ме [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 <sup>1-2</sup> p < 0,05 <sup>1-3</sup>
НВЛ 2, Ме [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 <sup>1-2</sup> p < 0,001 <sup>1-3</sup> p < 0,01 <sup>1-4</sup>

У пациентов с ИЭ и 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 12).

Таблица 12 – Уровень НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ в зависимости от госпитальной летальности по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

Показатель	НВЛ1, Ме [IQR]	НВЛ2, Ме [IQR]
ИЭ с госпитальной летальностью	9,2 [1,8-18,9]*	18,2 [5,2-26,6]**
ИЭ выжившие	4,2 [0,3-28,5]*	4,0 [1,0-26,6]**
Оперированные пациентами с пороками сердца	3,4 [1,7-6,9]*	2,9 [1,1-4,3]**
Сепсис	4,4 [1,4-7,0]	4,8 [1,8-8,9]

Примечание – \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$  – значимость различий по сравнению с ИЭ с госпитальной летальностью.

По данным ROC-анализа было вычислено пороговое значение НВЛ в динамике для прогнозирования госпитальной летальности при оптимальном соотношении чувствительности и специфичности, 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 5). Данное отрезное значение предсказывало развитие госпитальной летальности у оперированных пациентов с ИЭ с высокой точностью (ОШ 37,00, 95% ДИ от 3,28 до 416,92,  $p=0,0001$ ).

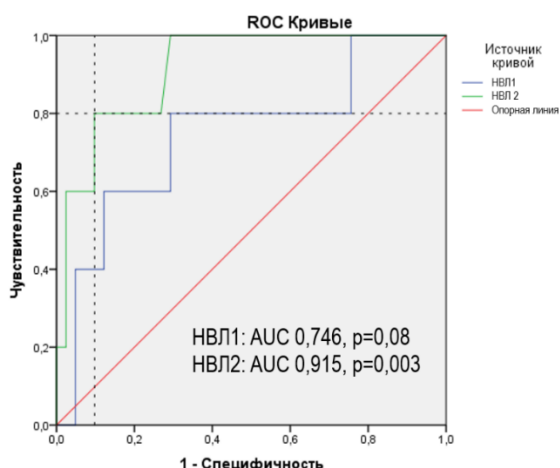


Рисунок 5 – ROC-анализ: связь значения НВЛ при поступлении/в динамике и госпитальной летальности у оперированных пациентов с ИЭ

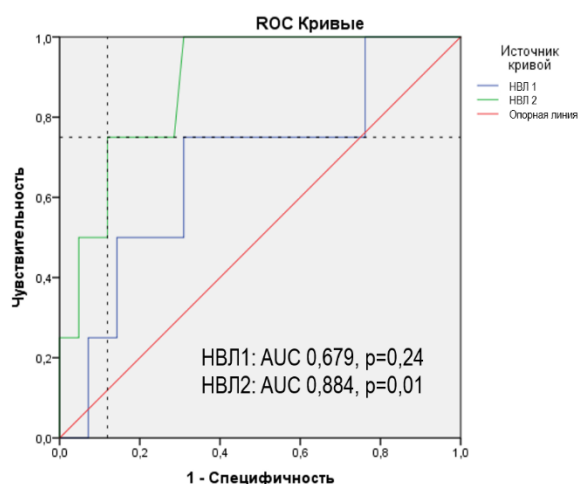
При многофакторном регрессионном анализе включались переменные, для которых получена значимость межгрупповых различий при однофакторном анализе – НВЛ (точка 2)  $\geq 11,2\%$  и развитие инфекционных осложнений (сепсис, рецидив ИЭ) в раннем послеоперационном периоде. При этом показано, что уровень НВЛ (точка 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,  $p=0,02$ ).

У четырех пациентов течение ИЭ осложнилось развитием сепсиса, что сопровождалось нарастанием уровня НВЛ в динамике с достоверным отличием от оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ (Таблица 13).

Таблица 13 – Уровень НВЛ у оперированных пациентов с ИЭ в зависимости от развития сепсиса по сравнению с оперированными пациентами с пороками сердца без ИЭ и сепсисом

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

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



При соотношении оптимального уровня чувствительности и специфичности с помощью ROC-анализа вычислено пороговое значение уровня НВЛ в динамике для прогнозирования развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ, составившее 11,2% (Рисунок 6).

Рисунок 6 – ROC-анализ: связь значения НВЛ с развитием сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ

Найденное отрезное значение предсказывало развитие сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ с высокой точностью (ОШ 22,0, 95% ДИ от 1,90 до 256,80,  $p=0,01$ ), чувствительностью составила 75%, специфичность – 88%, ППЦ 60%, ОПЦ 100%, площадь под кривой (AUC) 0,884,  $p=0,01$ .

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,  $p < 0,05$ .

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 7, при этом расхождение кривых

Каплана-Мейера отмечалось уже в раннем послеоперационном периоде (до 20 дней после операции) и далее оставалось относительно стабильным.

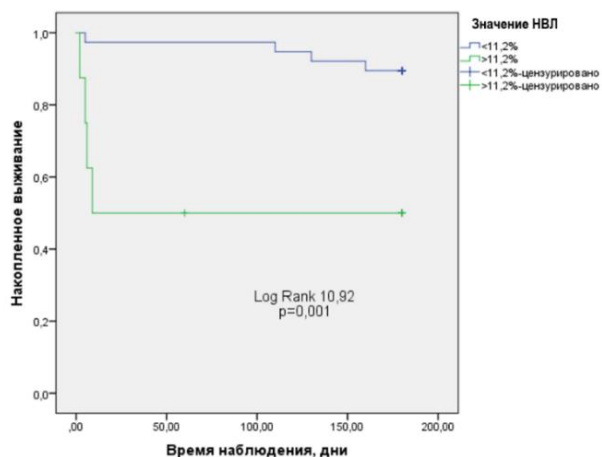


Рисунок 7 – Кривые выживаемости Каплана-Мейера у оперированных пациентов с ИЭ в течение 6 месяцев после операции в зависимости от уровня НВЛ 2

### 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.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Kotova, E. O. Value of polymerase chain reaction in etiological diagnostic of infective endocarditis / E. O. Kotova, E. A. Domonova, A. S. Pisaryuk, O. Y. Silveystrova, Y. L. Karaulova, N. M. Povalyaev, **A. Y. Moiseeva**, Y. A. Timofeeva, Z. D. Kobalava // *European Heart Journal*. – 2021. – Vol. 42. (Suppl. 1). – P. 1720.

2. Писарюк, А. С. Клинический случай дифференциальной диагностики причин тяжелого поражения клапанного аппарата сердца (артериит Такаясу, инфекционный эндокардит и миксоматозная дегенерация) и роль гистологического и ПЦР-исследования / А. С. Писарюк, Е. О. Котова, П. В. Агеев, **А. Ю. Моисеева**, Н. М. Поваляев, Э. А. Домонова, О. Ю. Сильвейстрова, Н. С. Цимбалит, Ю. И. Бабухина, И. А. Мерай, П. В. Кажкян, А. Д. Мешков, А. Ф. Сафарова, Ж. Д. Кобалава // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. – 2022. – №18 (6). – С. 676-683.

3. Котова, Е. О. Клинико-диагностическая ценность включения ПЦР-исследования крови в традиционный алгоритм идентификации возбудителей инфекционного эндокардита: когортное исследование 124 пациентов. / Е. О. Котова, Э. А. Домонова, Ж. Д. Кобалава, **А. Ю. Моисеева**, А. С. Писарюк, О. Ю. Сильвейстрова, Ю. Л. Караулова, В. Г. Акимкин // *Терапевтический архив*. – 2023. – № 95 (1). – С. 23-31.

4. Котова, Е. О. Влияние антибактериальной терапии на чувствительность методов этиологической диагностики у оперированных пациентов с инфекционным эндокардитом. / Е. О. Котова, **А. Ю. Моисеева**, Ж. Д. Кобалава, Э. А. Домонова, А. С. Писарюк, О. Ю. Сильвейстрова, П. В. Кахкцян, В. В. Владимиров // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2023. – №19 (1). – С. 34-42.

5. Котова, Е. О. Прогностическое значение нейтрофильных внеклеточных ловушек и диагностическая роль ПЦР при инфекционном эндокардите / Е. О. Котова, **А. Ю. Моисеева**, Э. А. Домонова, А. С. Писарюк, А. С. Гурьев, Д. В. Кассина, Ю. И. Бабухина, Ж. Д. Кобалава// Российский национальный конгресс кардиологов 2022: Новая стратегия в новой реальности – открытость, единство, суверенитет (29 сентября – 1 октября 2022 года, Казань): сб. научн. работ – Казань. – 2022. – С. 472.

6. Котова, Е. О. Диагностическое преимущество ПЦР-исследования в этиологической диагностике инфекционного эндокардита/ Е. О. Котова, Э. А. Домонова, А. С. Писарюк, Ю. Л. Караулова, **А. Ю. Моисеева**, Ж. Д. Кобалава // Российский национальный конгресс кардиологов 2021 (21 октября – 23 октября 2021 года, Санкт-Петербург): сб. научн. работ – Санкт-Петербург. – 2021. – С. 515.

7. Kotova, E. Advantage of the PCR test in aetiological diagnosis of infective endocarditis. /E. Kotova, E. Domonova, A. Pisaryuk, O. Silveystrova, Y. Karaulova, N. Povalyaev, **A. Moiseeva**, Z. Kobalava // 31st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID): Abstract book (Online 9 – 12 July 2021). – 2021. – P. 773-806.

#### Список сокращений

AUC – площадь под кривой (area under curve),

*CoNS* – коагулазонегативный стафилококк,

АБТ – антибактериальная терапия,

АК – аортальный клапан,

ДИ – доверительный интервал,

ИЭ – инфекционный эндокардит,

МБИ – микробиологическое исследование,

МК – митральный клапан,

НВЛ – нейтрофильные внеклеточные ловушки,

ОПЦ – отрицательная прогностическая ценность,

ОР – отношение рисков,

ОШ – отношение шансов,

ППЦ – положительная прогностическая ценность,

ПЦР – полимеразная цепная реакция,

ТК – трикуспидальный клапан,

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка.

**Моисеева Александра Юрьевна (Российская Федерация)**  
**Клиническое значение комплексной этиологической диагностики и**  
**нейтрофильных внеклеточных ловушек у оперированных пациентов с**  
**инфекционным эндокардитом**

В проспективном исследовании по изучению диагностической эффективности этиологических методов включено 52 оперированных пациента с инфекционным эндокардитом (ИЭ) и 50 оперированных пациентов с пороками сердца без ИЭ. Совпадение возбудителей, выявленных при микробиологическом исследовании (МБИ) и ПЦР-исследовании крови и тканей клапанов, наблюдалось только у 42,3% оперированных пациентов с ИЭ. Дополнительное применение ПЦР-исследования крови и тканей клапана позволило повысить частоту выявления возбудителя на 28,9% за счет впервые выявленных возбудителей и доказательства ложноположительных результатов МБИ. ПЦР-исследование обладало высокой диагностической эффективностью, особенно при исследовании ткани клапана, вне зависимости от длительности дооперационной антибактериальной терапии (АБТ). Наименьшей чувствительностью обладало МБИ крови и тканей клапана у длительно леченных АБТ пациентов. Впервые оценена прогностическая значимость наличия и количества нейтрофильных внеклеточных ловушек в крови у оперированных пациентов с ИЭ. Определенное отрезное значение нейтрофильных внеклеточных ловушек  $\geq 11,2\%$  являлось предиктором госпитальной летальности и развития сепсиса у оперированных пациентов с ИЭ и повышало риск возникновения комбинированных событий (общая летальность от всех причин и/или рецидив ИЭ в течение 6 месяцев после операции) в 8 раз ( $p < 0,001$ ).

**Moiseeva Alexandra Yurievna (Russian Federation)**  
**Clinical significance of complex etiological diagnostics and neutrophil extracellular**  
**traps in operated patients with infective endocarditis**

A prospective study to examine the diagnostic effectiveness of etiological methods included 52 operated patients with infective endocarditis (IE) and 50 operated patients with valve defects without IE. The coincidence of pathogens detected during microbiological examination (MBE) and PCR examination of blood and valve tissues was observed only in 42.3% of operated patients with IE. The additional use of PCR examination of blood and valve tissues made it possible to increase the detection rate of the pathogen by 28.9% due to newly identified pathogens and evidence of false positive MBE results. The PCR examination had high diagnostic efficiency, especially PCR examination of valve tissues, regardless of the duration of preoperative antimicrobial therapy (AMT). The MBE of blood and valve tissues had the least sensitivity in patients treated with long-term AMT. The prognostic significance of the presence and the number of neutrophil extracellular traps in blood of operated patients with IE was evaluated for the first time. The level of neutrophil extracellular traps  $\geq 11.2\%$  in operated patients with IE was a predictor of hospital mortality and sepsis development and increased the risk of combined events (total mortality from all causes and/or recurrence of IE within 6 months after surgery) by 8 times ( $p < 0.001$ ).