

Инфекционный эндокардит: значение молекулярно-биологических методов в этиологической диагностике

Е.О. КОТОВА¹, Э.А. ДОМОНОВА², Ю.Л. КАРАУЛОВА^{1,3}, А.С. МИЛЬТО³, А.С. ПИСАРЮК¹,
О.Ю. СИЛЬВЕЙСТРОВА², О.Ю. ШИПУЛИНА², Г.А. ШИПУЛИН², В.С. МОИСЕЕВ¹

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России, Москва, Россия; ²ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва, Россия; ³ГБУЗ ГКБ №64 ДЗМ, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучить особенности традиционных бактериологических и современных молекулярно-биологических методов этиологической диагностики инфекционного эндокардита (ИЭ).

Материалы и методы. Обследовали 53 больных, госпитализированных в 2012—2015 гг. в ГБУЗ ГКБ №64 ДЗМ, которым проводилось одновременное бактериологическое и молекулярно-биологическое (полимеразная цепная реакция — ПЦР или ПЦР с последующим секвенированием) исследования крови или тканей резецированного сердечного клапана.

Результаты. В исследование включены 53 пациента с ИЭ (Duke 2009), медиана возраста 62 года (31 мужчина), первичная форма ИЭ у 32 (60,4%). Положительные результаты бактериологического исследования крови получены у 28 (52,8%) пациентов, ПЦР — у 34 (64,2%). Конкордантные результаты имелись в 21 из 28 случаев положительной культуры крови, дискордантные — у 7 (25%), при этом у 3 выявлено полное несоответствие по выявленным возбудителям (при бактериологическом исследовании рост *Enterococcus spp.*, методом ПЦР — ДНК *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*), а у 4 пациентов при положительном результате бактериологического исследования крови идентифицировать ДНК возбудителя не удалось. Среди 25 (47,2%) обследованных с культуронегативным ИЭ положительные результаты, представленные кокковой и грибковой флорой ПЦР, получены у 10. Редких возбудителей не выявлено. В тканях 8 резецированных пораженных сердечных клапанов выявлен более широкий спектр возбудителей, чем в образцах крови, что связано с образованием бактериальных пленок.

Заключение. Бактериологическим методом этиологический агент ИЭ в венозной крови выявлен у 52,8% обследованных, методом ПЦР — у 64,2%, а при сочетанном применении обоих методов — у 71,7%. Конкордантные результаты имеются у 67,9%, дискордантные — у 32,1%, среди которых ДНК возбудителя методом ПЦР при культуронегативном ИЭ получены у 18,9% пациентов.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит, бактериологические методы диагностики, полимеразная цепная реакция, молекулярно-биологические методы, *Staphylococcus aureus*.

Infective endocarditis: Importance of molecular biological techniques in etiological diagnosis

Е.О. КОТОВА¹, Э.А. ДОМОНОВА², Ю.Л. КАРАУЛОВА^{1,3}, А.С. МИЛЬТО³, А.С. ПИСАРЮК¹, О.Ю. СИЛЬВЕЙСТРОВА²,
О.Ю. ШИПУЛИНА², Г.А. ШИПУЛИН², В.С. МОИСЕЕВ¹

¹Peoples' Friendship University of Russia, Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia; ²Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russia; ³City Clinical Hospital Sixty-Four, Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

Aim. To investigate the specific features of conventional bacteriological methods and current molecular biological techniques for the etiological diagnosis of infective endocarditis (IE).

Subjects and methods. Examinations were made in 53 patients treated at City Clinical Hospital Sixty-Four, Moscow Healthcare Department, in 2012—2015 who underwent simultaneous bacteriological and molecular biological (polymerase chain reaction (PCR) or PCR with further sequencing) examinations of blood or resected cardiac valve tissues.

Results. The investigation included 53 patients (31 men; median age, 62 years) with IE (Duke 2009); its primary form was observed in 32 (60.4%) patients. Blood bacteriological tests and PCR assays were positive in 28 (52.8%) and 34 (64.2%) patients, respectively. There were concordant results in 21 of the 28 positive blood culture cases and discordant results in 7 (25%); at the same time 3 cases showed a complete discordance in the detected causative agents (the growth of *Enterococcus spp.* was revealed by bacteriological examination and that of *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, and *Escherichia coli* by DNA PCR) and a pathogen could not be identified by DNA PCR in 4 patients who had positive blood bacteriological results. The positive PCR results for cocci and fungi were obtained in 10 of the 25 (47.2%) examinees with culture-negative IE. Rare causative agents were not revealed. The tissues obtained from 8 resected damaged heart valves displayed a wider spectrum of pathogens than did blood samples, which was associated with the formation of bacterial films.

Conclusion. The etiological agent of IE was revealed in venous blood by bacteriological examination in 52.8% of the examinees, by PCR in 64.2%, and by either in 71.7%. There were concordant and discordant results in 67.9 and 32.1% of the patients, respectively; among whom 18.9% were found to have pathogen DNA revealed by PCR in culture-negative IE.

Keywords: infective endocarditis, bacteriological diagnostic methods, polymerase chain reaction, molecular biological techniques, *Staphylococcus aureus*.

АБТ — антибактериальная терапия
БИК — бактериологическое исследование крови

ИЭ — инфекционный эндокардит
ПЦР — полимеразная цепная реакция

Инфекционный эндокардит (ИЭ) относится к опасным для жизни и трудно излечимым заболеваниям [1]. Основу диагностики ИЭ в настоящее время составляют модифицированные критерии Duke, обновленные в 2015 г. [2–4]. Наиболее достоверным и прогностически значимым критерием ИЭ является положительная культура крови, определяющая выбор эффективной антибактериальной терапии (АБТ). К сожалению, установить этиологический фактор удается не всегда. В странах Европы культуронегативный ИЭ встречается у 2,5–31% больных [2, 4], в Африке у 40–69,7% [5, 6], а в России у 31,7–87% [7, 8]. «Золотым стандартом» диагностики ИЭ остается патогистологическое исследование резецированных тканей клапанов или эмболических фрагментов. Для усовершенствования этиологической диагностики, особенно при культуронегативном ИЭ, предлагается применение иммунохимических (реакция непрямой иммунофлюоресценции или иммуноферментный анализ) и молекулярно-биологических методов (полимеразная цепная реакция — ПЦР, реакция циклического секвенирования), что нашло отражение в рекомендациях Европейского общества кардиологов 2015 г., в которых по сравнению с аналогичным документом 2009 г., значительно расширены показания к применению ПЦР [2, 3, 9–11].

Большинство исследований по использованию ПЦР для этиологической диагностики ИЭ основаны на исследовании тканей иссеченных пораженных клапанов во время операции [5, 6]. Исследования по прямому сравнению культуры крови и ПЦР крови практически не встречаются или они небольшие. Так, по данным М. Kemp и соавт. [12], положительные результаты бактериологического исследования крови (БИК) получены у 43 (77%) из 56 человек, ПЦР — у 42 (75%), из них только 5 — при отрицательных посевах крови. По данным С. Kühn и соавт. [13], положительные посевы крови имелись у 9 (30%) из 30, ПЦР — у 23 (77%), из них 16 при культуронегативном ИЭ. По данным А. El-Kholу и соавт. [5], положительные результаты БИК получены у 40 (30,3%) из 132 больных, ПЦР — у 52 (39,4%), из них 9 при культуронегативном ИЭ. Во всех исследованиях обращали внимание ложноотрицательные результаты ПЦР при положительных результатах БИК: в первом исследовании в 6 случаях, во вто-

ром исследовании — в 2, в третьем — в 8, что объяснялось авторами наличием ингибиторов ПЦР в крови, погрешностью забора материала (на фоне АБТ) [5, 12, 13]. Исследования также показали, что бактериальные и грибковые ДНК/РНК могут сохраняться в течение нескольких месяцев или лет после перенесенного ИЭ в крови и тканях клапана [14, 15], а интерпретация полученных результатов ПЦР должна проводиться с большой осторожностью в связи с необходимостью выделения из спектра полученных возбудителей только этиологически значимых организмов [16, 17]. В связи с изложенным представляет интерес прямое сравнение бактериологического и молекулярно-биологического методов для этиологической диагностики ИЭ как в крови, так и в ткани резецированного сердечного клапана.

Целью исследования являлось одновременное изучение традиционных бактериологических и молекулярно-биологических методов исследования в этиологической диагностике ИЭ.

Материалы и методы

Обследовали 53 больных ИЭ, находившихся на лечении в Городской клинической больнице №64 с сентября 2012 г. по январь 2015 г. Диагноз ИЭ устанавливали на основании модифицированных критериев Duke (2009). Всем пациентам проводили одновременное одномоментное бактериологическое и молекулярно-биологическое (ПЦР или ПЦР с последующим секвенированием) исследования. Все процедуры по забору крови выполняли в стерильных условиях и до назначения антибиотикотерапии. У каждого пациента брали образцы крови в объеме 20 мл, трехкратно, с интервалом 20–30 мин, из 3 разных периферических вен. Кровь по 10 мл распределяли во флаконы с питательной средой: VersaTREK REDOX1 (аэробная среда) и REDOX2 (анаэробная среда) и инкубировали в автоматическом бактериологическом анализаторе VersaTREK 528 Galen (Россия) в течение 5 дней. Положительную культуру высевали на дифференциально-диагностические среды с последующей идентификацией возбудителя по общепринятой методике с определением антибиотикочувствительности. Средняя продолжительность бактериологического исследования составляла 5–7 дней.

При одновременном молекулярно-биологическом исследовании выполняли трехкратный забор крови по 5 мл в стерильные пробирки с ЭДТА, которые доставляли в течение 24 ч в отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (зав. — к.м.н. Г.А. Шипулин). Спектр возбудителей, определяемый при помощи молекулярно-биологического метода, включал следующих представителей: ДНК чувствительного и резистентного к метициллину *Staphylococcus aureus*, резистентных к метициллину коагулазонегативных *Staphylococcus* spp., ДНК энтеробактерий (семейства *Enterobacteriaceae*, включая *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. и др.), *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., ДНК *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, ДНК *Streptococcus agalactiae*, ДНК *Streptococcus pyogenes*, ДНК грибов рода *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis*), ДНК энтерококков (включая *E. faecium*, *E. faecalis* и др.). Средняя продолжительность выполнения ПЦР составляла 4–6 ч, ПЦР с секвенированием — 1–2 дня. В случае летального исхода осуществляли бактериологическое и молекулярно-биологическое исследование резецированного пораженного клапана (всего 8).

Математическую и статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов прикладного про-

Сведения об авторах:

Домонова Эльвира Алексеевна — к.б.н., с.н.с. отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии

Караулова Юлия Леонидовна — д.м.н., доц. каф. факультетской терапии РУДН; зав. 7-м кардиологическим отд-нием ГБУЗ ГКБ №64 ДЗМ

Мильто Анна Сергеевна — д.м.н., проф. каф. пропедевтики внутренних болезней РУДН; зам. главного врача по лечебной части ГБУЗ ГКБ №64 ДЗМ

Писарюк Александра Сергеевна — аспирант каф. факультетской терапии

Сильвейстрова Ольга Юрьевна — м.н.с. отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии

Шипулина Ольга Юрьевна — к.м.н., рук. лаб. молекулярных методов диагностики отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии

Шипулин Герман Александрович — к.м.н., зав. отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии

Моисеев Валентин Сергеевич — проф., зав. каф. факультетской терапии РУДН, акад. РАН

Контактная информация:

Котова Елизавета Олеговна — к.м.н., ассистент каф. факультетской терапии РУДН; e-mail: mauschen@inbox.ru

граммного обеспечения Statistica for Windows 6.0 и Excel 7.0 (Microsoft, США), Statistica 6.0 (StatSoft, США). Статистическую гипотезу проверяли с помощью критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Включили в исследование 53 больных ИЭ (Duke, 2009) с медианой возраста 62 (34–73) года, среди которых мужчины составили 31 (58,5%), женщины — 22 (41,5%). Первичная форма ИЭ имела у 32 (60,4%), вторичная форма — у 21 (39,6%). Последняя представлена неревматическими поражениями клапанов сердца (у 6; или 11,3%), ревматическими пороками (у 2; или 3,8%), ИЭ на фоне перенесенного ранее ИЭ (у 2; или 3,8%), ИЭ протеза клапана (у 10; или 18,9%) и ИЭ кардиостимулятора (у 1; или 1,9%). Преобладало поражение одного клапана (у 47; или 88,7%) с локализацией вегетаций на аортальном клапане (у 21; или 39,6%), несколько реже встречался ИЭ трикуспидального (у 15; или 28,3%) и митрального (у 11, или 20,8%) клапанов. Многоклапанная локализация вегетаций имела у 6 (11,3%) обследованных. Употребление внутривенных наркотиков выявлено у 17 (32,1%) пациентов, алкоголя — у 14 (26,4%). Из сопутствующих заболеваний наиболее часто встречалась артериальная гипертония (у 31; или 58,5%), реже — фибрилляция предсердий (у 18; или 34%), ишемическая болезнь сердца (у 12; или 22,6%), церебральные заболевания (у 12; или 22,6%), сахарный диабет (у 9; или 17%), цирроз печени (у 4; или 7,5%). Благоприятный исход наблюдался у 33 (62,3%) обследованных, протезирование клапана выполнено 8 (15,1%) пациентам, умерли 12 (22,6%) больных. Согласно модифицированным критериям диагностики ИЭ DUKE (2009 г.) достоверный диагноз установлен у 47 (88,7%) пациентов, вероятный — у 6 (11,3%).

Одновременное сравнительное исследование бактериологического и молекулярно-биологического методов. Положительные результаты БИК по традиционной методике получены у 28 (52,8%) пациентов, представленные *Staphylococcus* spp. (у 16, или 57,1%), *Enterococcus* spp. (у 4, или 14,3%), *Streptococcus* spp. (у 2, или 7,1%), *K. pneumoniae* (у 1, или 3,5%) и *E. coli* (у 1, или 3,5%). Полифлора выявлена у 4 (14,3%) обследованных, у 25 (47,1%) рост отсутствовал.

Положительные результаты выявления ДНК методом ПЦР с секвенированием получены в 34 (64,2%) случаях, при этом конкордантные результаты с БИК имелись в 21

из 28 случаев положительной культуры крови традиционным методом, а дискордантные — в 7 (25%) из 28 (табл. 1). Из них в 3 случаях отмечено полное несоответствие результатов двух сравниваемых методов: в образцах крови при БИК определялся рост *Enterococcus* spp., а молекулярно-биологическим методом выявлены ДНК иных возбудителей. У оставшихся 4 обследованных при положительных результатах БИК идентифицировать ДНК возбудителя методом ПЦР не удалось. Отмечено, что среди этих 4 пациентов у 3 проводилась предшествующая длительная массивная АБТ (более 3 мес), а в одном случае отмечено недавнее употребление внутривенных наркотических препаратов.

Отрицательные результаты БИК наблюдались у 25 (47,2%) обследованных, из них положительные результаты ПЦР получены у 10 (см. табл. 1).

Исследование образцов тканей пораженных резецированных клапанов обоими методами выполнено у 8 пациентов (табл. 2). У 3 (37,5%) больных отмечено полное совпадение результатов по этиологическому агенту ИЭ как в крови, так и в аутопсийном материале. В 2 случаях получен более широкий спектр возбудителей методом ПЦР как в крови, так и при исследовании тканей клапана. В одном случае молекулярно-биологическим методом не удалось идентифицировать ДНК *S. albicans* в крови (выявленную позже в ткани клапана), а у одного пациента результаты обоих исследований разошлись полностью. Выявлен один случай доказанной контаминации венозной крови при исследовании традиционным способом. В крови бактериологическим методом прижизненно определялся рост *Gemella haemolysans* (облигатная флора ротовой полости, дыхательного и желудочно-кишечного тракта), а молекулярно-биологическим методом идентифицирована ДНК *S. constellatus*, подтвержденная при исследовании образцов тканей резецированного пораженного клапана. При этом помимо *S. constellatus* обоими методами также обнаружены рост и ДНК иных бактерий, за исключением *G. haemolysans*.

Обсуждение

При одновременном сравнении бактериологических и молекулярно-биологических методов идентификации этиологического агента ИЭ в венозной крови положительные результаты бактериологического исследования

Таблица 1. Дискордантные результаты бактериологического и ПЦР исследования венозной крови (n=17)

Результаты БИК	Результаты молекулярно-биологического исследования
<i>Enterococcus faecalis</i> (1)	MRCoNS, <i>Streptococcus</i> spp.
<i>Enterococcus faecium</i> (1)	<i>E. coli</i> , <i>Streptococcus</i> spp.
<i>E. columbae</i> (1)	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
<i>S. aureus</i> MSSA (3)	ПЦР отрицательная (3)
<i>E. faecium</i> , <i>K. pneumoniae</i> (1)	ПЦР отрицательная (1)
Отрицательная культура крови (10)	MRCoNS: <i>S. epidermidis</i> , <i>S. haemolyticus</i> (1)
	<i>Aspergillus</i> spp. (1)
	<i>S. aureus</i> MSSA (2)
	<i>P. multocida</i> (1)
	<i>S. agalactiae</i> , MRCoNS (1)
	<i>Enterococcus</i> spp. (1)
	<i>S. constellatus</i> (1)
	<i>C. albicans</i> , <i>S. epidermidis</i> (1)
	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> (1)

Таблица 2. Результаты бактериологического и молекулярно-биологического исследования венозной крови и тканей в резецированных пораженных сердечных клапанов

Кровь		Клапан	
бактериология	ПЦР	бактериология	ПЦР
<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>S. aureus MSSA</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>S. aureus MSSA</i>	<i>S. aureus MRSA + MSSA</i> <i>K. pneumoniae, C. glabrata</i>
<i>S. gallolyticus</i>	<i>S. gallolyticus MRCoNS, E. coli</i>	<i>K. pneumoniae, E. faecium</i>	<i>S. gallolyticus, A. baumannii</i> <i>K. pneumoniae, C. glabrata</i> <i>E. coli, MRCoNS</i>
<i>S. aureus MSSA, S. epidermidis, C. albicans</i>	<i>S. aureus MSSA, MRCoNS</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus MRSA + MRCoNS, C. albicans</i>
<i>Enterococcus columbae</i>	<i>S. gallolyticus</i>	<i>K. oxytoca, E. columbae, S. aureus</i>	<i>S. gallolyticus</i> <i>S. aureus MRSA + MRCoNS</i>
<i>G. haemolysans</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. constellatus, S. aureus MRSA</i> <i>E. coli, K. pneumoniae</i>

получены у 28 (52,8%) из 53 пациентов с конкордантными результатами у 21 (36,9%) обследованного, дискордантными — у 7 (13,2%), а положительные результаты ПЦР при отрицательном БИК (у 25; или 47,2%) имелись у 10 (18,9%) пациентов. Таким образом, конкордантные результаты в целом имелись у 36 (67,9%) человек, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований — 67,5% [6], 61,7% [18], 53,5% [19] и 48% [20].

В нашем исследовании 7 положительных случаев бактериологического исследования не совпали с результатами ПЦР-метода. При этом в 3 из них бактериологическим методом обнаружены представители энтерококков, а методом ПЦР выявлены ДНК возбудителей, представленной другой кокковой флорой. Данный феномен К. Nargis и соавт. [18] связывали с возможностью неточной идентификации микроорганизма фенотипическими методами, что мы также считаем наиболее очевидным и в нашем исследовании, в связи с этим при назначении АБТ мы в первую очередь ориентировались на результаты ПЦР. В отношении случаев отрицательной ПЦР при положительной культуре крови традиционным методом (у 4; или 14,3%), представленной стафилококками (у 3) и энтерококками (у 1), следует отметить, что аналогичные результаты получены С. Lamas и соавт. [6], которые объяснены техническими особенностями, связанными с трудностью разрушения клеточной стенки кокковых возбудителей в процессе экстракции ДНК. Нам также не представляется возможным полностью исключить контаминацию культуры крови при использовании бактериологических методов диагностики [6, 18, 21].

Наибольшую диагностическую ценность представляет возможность идентификации возбудителя молекулярно-биологическими методами при отрицательных результатах бактериологического исследования, на долю которых согласно зарубежным данным приходится 31—60% [3, 18], а в России 31,7—87% [7, 8]. В нашей работе отрицательные результаты исследования венозной крови традиционными методами определены у 25 (47,2%) обследованных, при этом у 10 (40%) пациентов удалось установить этиологический агент методом ПЦР прижизненно, что позволило с успехом назначить соответствующую АБТ у 8 больных, 2 пациента умерли.

Особенностью нашего исследования явилась высокая частота выявления полифлоры молекулярно-биологическими методами — 14 (26,4%), что ставит вопрос о назначении рациональной АБТ с учетом чувствительности всех возбудителей. В аналогичных исследованиях сообщается о единичных случаях смешанной инфекции [6, 18, 22, 23], однако все исследования были небольшими и основаны на изучении методом ПЦР только тканей клапанов. При определении этиологически значимой флоры для назначения АБТ мы в первую очередь ориентировались на концентрацию ДНК возбудителя. АБТ, назначаемая в зависимости от чувствительности возбудителя согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению ИЭ (2009—2015), как правило, перекрывает более широкий спектр микроорганизмов. Полученные данные оставляют открытыми для обсуждения ряд вопросов и обуславливают необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Проведение молекулярно-биологического исследования тканей резецированного пораженного сердечного клапана имеет особое значение как для установления этиологии при культуронегативном ИЭ, так и для возможности объективного контроля эффективности этиологической диагностики в целом [18, 24]. Изучение тканей резецированного пораженного сердечного клапана выполнено у 8 пациентов, при этом выявленная флора представлена более широким спектром возбудителей, чем при изучении образцов венозной крови, что наиболее вероятно связано с образованием бактериальных пленок на структурах пораженного сердечного клапана.

Таким образом, исходя из анализа полученных результатов удалось провести идентификацию этиологического агента ИЭ при использовании бактериологического исследования в 52,8% случаев, молекулярно-биологического — 64,2%, а при использовании обоих методов — в 71,7%. Отсутствие крупных научных исследований по определению диагностической эффективности и особенностей идентификации возбудителей при ИЭ в крови определяет в настоящее время место молекулярно-биологических методов как дополнительных при получении отрицательных результатов бактериологического исследования. Однако нам представляется актуальным расшире-

ние показаний к выполнению данного теста, учитывая его более широкие диагностические возможности. В связи с малой изученностью проблемы для окончательного определения значения современных методов в диагностике ИЭ необходимо продолжить исследования по изучению особенностей использования молекулярно-биологического анализа при идентификации этиологического агента в различном биологическом материале.

Заключение

Сохраняется значительный тренд в этиологической структуре ИЭ в сторону преобладания доли стафилококков и энтерококков и уменьшения доли стрептококков. Сочетанное применение бактериологических и молекулярно-биологических методов значительно увеличивает

возможность прижизненной идентификации этиологического агента в крови 52,8—71,7% случаев. Дискордантные результаты при сравнении бактериологических и молекулярно-биологических методов в крови (13,2%) обусловлены техническими особенностями обоих методов и определяют трудности этиологической диагностики ИЭ. Актуально расширение показаний к применению молекулярно-биологических методов, не только при культуре ронегативном ИЭ, но в качестве метода контроля за достоверностью результатов, полученных с использованием бактериологических методов диагностики в крови. Изучение тканей пораженного клапана при ИЭ остается «золотым стандартом» достоверной этиологической диагностики.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чипигина Н.С., Белостоцкий А.В. Инфекционный эндокардит: изменение предрасполагающих факторов и эволюция возбудителей. *Сердце: журнал для практикующих врачей*. 2010;9(4):242-250.
2. Habib G et al. ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *Eur Heart J*. 2015. doi:10.1093/eurheartj/ehv319
3. Habib G, Hoen B, Tornos P et al. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009). *Eur Heart J*. 2009;30:2369-2413. doi:10.1093/eurheartj/ehp285
4. Karchmer AW. Infective endocarditis. In: Braunwald's Heart Disease; 2015.
5. El-Kholy A et al. Impact of serology and molecular methods on improving the microbiologic diagnosis of infective endocarditis in Egypt. *Springer*. 2015. doi:10.1007/s15010-015-0761-2
6. Lamas C et al. Diagnosis of blood culture negative endocarditis and clinical comparison between blood culture negative and blood culture positive cases. *Springer*. 2015. doi:10.1007/s15010-015-0863-x
7. Тюрин В.П. *Инфекционные эндокардиты, руководство*. Под ред. акад. РАМН Шевченко Ю.Л. М.: GEOTAR-Медиа; 2012.
8. Моисеев В.С., Котова Е.О., Караулова Ю.Л. Эпидемиология и клиническое течение современного инфекционного эндокардита (по данным муниципальной больницы). *Клиническая фармакология и терапия*. 2014;23(3):62-66.
9. Fenollar F, Raoult D. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(1):7-15. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.06.024
10. Tak T, Shukla SK. Molecular Diagnosis of Infective Endocarditis: A Helpful Addition to the Duke Criteria. *Clin Med Res*. 2004;2(4):206-208. doi:10.3121/cm.2.4.206
11. Millar BC, Moore JE. Current trends in the molecular diagnosis of infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:353-365. doi:10.1007/s10096-004-1132-6
12. Kemp M, Bangsbo J, Kjerulf A. Advantages and Limitations of Ribosomal RNA PCR and DNA Sequencing for Identification of Bacteria in Cardiac Valves of Danish Patients. *Open Microbiol J*. 2013;27(7):146-151. doi:10.2174/1874285801307010146
13. Kühn C, Disqué C, Mühl H, Orszag P, Stiesch M, Haverich A. Evaluation of commercial universal rRNA gene PCR plus sequencing tests for identification of bacteria and fungi associated with infectious endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2011;49(8):2919-2923. doi:10.1128/jcm.00830-11
14. Kalokhe AS, Roupheal N, El Chamia MF et al. Aspergillus endocarditis: a review of the literature. *Inte J Inf Dis*. 2010;14:1040-1047. doi:10.1016/j.ijid.2010.08.005
15. Vollmer T, Piper C, Horstkotte D et al. 23S rDNA real-time polymerase chain reaction of heart valves: a decisive tool in the diagnosis of infective endocarditis. *Eur Heart J*. 2010;31:1105-1113. doi:10.1093/eurheartj/ehp600
16. Fournier PE, Thuny F, Richet H et al. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. *Clin Infect Dis*. 2010;51:131-140. doi:10.1086/653675
17. Boussier R, Rogez S, Francois B et al. Two-step bacterial broad-range polymerase chain reaction analysis of heart valve tissue improves bacteriological diagnosis of infective endocarditis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75:240-244. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.013
18. Harris KA et al. Hartley 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. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:2061-2066. doi:10.1007/s10096-014-2145-4
19. Wellinghausen N, Kochem AJ, Disqué C et al. Diagnosis of Bacteremia in Whole-Blood Samples by Use of a Commercial Universal 16S rRNA Gene-Based PCR and Sequence Analysis. *J Clin Microbiol*. 2009;47:2759-2765. doi:10.1128/jcm.00567-09
20. Ruppenthal RD, de Pereira FS, Cantarelli VV et al. Application of broad-range bacterial PCR amplification and direct sequencing on the diagnosis of neonatal sepsis. *Braz J Microbiol*. 2005;36:29-35. doi:10.1590/s1517-83822005000100006

21. Röver C, Greub G, Lepidi H et al. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. *J Clin Microbiol.* 2005;43:163-167.
doi:10.1128/jcm.43.1.163-167.2005
22. Assiri AS. Clinical and microbiological profiles of infective endocarditis in a tertiary hospital in Aseer region, Saudi Arabia. *J Saudi Heart Assoc.* 2011;23:207-211.
doi:10.1016/j.jsha.2011.04.002
23. Miyazato A, Ohkusu K, Tabata M et al. Comparative molecular and microbiological diagnosis of 19 infective endocarditis cases in which causative microbes were identified by PCR-based DNA sequencing from the excised heart valve. *J Infect Chemother.* 2012;18:318-323.
doi:10.1007/s10156-011-0332-0
24. Marsch G, Orszag P, Mashaqi B, Kuehn C, Haverich A. Antibiotic therapy following polymerase chain reaction diagnosis of infective endocarditis: a single centre experience. *Interact CardioVasc Thorac Surg.* 2015;20:589-593.
doi:10.1093/icvts/ivv006

Поступила 27.04.2016