

Современная лабораторная диагностика инфекционного эндокардита с позиций доказательной медицины

Л. А. Беганская, аспирант¹

А. П. Ройтман, д.м.н., проф.¹

А. В. Бугров, к.м.н., доцент¹

В. В. Долгов, д.м.н., проф., зав. кафедрой¹

А. Г. Морозов, аспирант²

Т. А. Федорова, д.м.н., проф., зав. кафедрой²



Л. А. Беганская



А. П. Ройтман



А. В. Бугров



В. В. Долгов



А. Г. Морозов



Т. А. Федорова

¹Кафедра клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

²Кафедра терапии Института профессионального образования ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва

Modern laboratory diagnosis of infective endocarditis from standpoint of evidence-based medicine

L. A. Beganskaya, A. P. Roytman, A. V. Bugrov, V. V. Dolgov, A. G. Morozov, T. A. Fyodorova
Russian Medical Academy for Postgraduate Continuous Education, First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov; Moscow, Russia

Резюме

Методы лабораторной диагностики играют ведущую роль в этиологической диагностике инфекционного эндокардита, выборе протокола лечения и использования различных режимов дозирования лекарственных препаратов. Новые 2015 года рекомендации по ведению инфекционного эндокардита, предложенные Европейским обществом кардиологов с позиций доказательной медицины, предусматривают использование в клинической практике модифицированных критериев Duke для диагностики инфекционного эндокардита, рекомендуют новый алгоритм этиологической диагностики заболевания. В исследовании представлен анализ возможностей современных методов лабораторной диагностики в отношении клинической практики в соответствии с принципами доказательной медицины, продемонстрирована взаимосвязь их возможностей, стратегия и последовательность применения, их эффективность в каждой конкретной клинической ситуации.

Ключевые слова: **инфекционный эндокардит, методы лабораторной диагностики, доказательная медицина.**

Summary

Methods of laboratory diagnostics play a leading role in the etiological diagnosis of infective endocarditis, the choice of treatment Protocol and use of different modes of dispensing of drugs. New 'Guidelines for the management of infective endocarditis' (2015), proposed by the European society of cardiology from the standpoint of evidence-based medicine include the use in clinical practice, the modified Duke criteria for diagnosis of infective endocarditis recommend new algorithm for the etiological diagnosis of the disease. The study presents the analysis of possibilities of modern methods of laboratory diagnostics in relation to clinical practice in accordance with the principles of evidence-based medicine, demonstrated the relationship of their capabilities, the strategy and consistency of application, their effectiveness in any particular clinical situation.

Key words: **infectious endocarditis, methods of laboratory diagnostics, evidence-based medicine.**

Инфекционный эндокардит (ИЭ) — заболевание инфекционной природы с первичной локализацией возбудителя на клапанах сердца, пристеночном эндокарде, протекающее с проявлениями системной инфекции, сосудистыми осложнениями, иммунной реакцией и с высоким уровнем летальности.

Последние десятилетия характеризуются повышенным ростом заболеваемости инфекционным эндокардитом. Ежегодно в мире появляются более 200 тыс. больных инфекционным эндокардитом. Заболеваемость инфекционным

эндокардитом увеличивается при ухудшении социально-бытовых условий жизни. По данным эпидемиологических исследований, частота развития инфекционного эндокардита в США и Европе составляет 17–25 случаев на 1 млн жителей в год [1]. В России этот показатель достиг 46,3 случая на 1 млн человек [2, 3]. Ежегодно в России ИЭ заболевают более 10 тыс. человек. Несмотря на успехи в диагностике и лечении, ИЭ по-прежнему смертельно опасное заболевание со значительной смертностью (около 20%) [4].

Протезирование клапанов сердца открыло новую эру в лечении больных врожденными и приобретенными пороками сердца. Однако в связи с этим возникли различные осложнения, наиболее опасным из которых является инфекционный эндокардит протезов клапанов. Даже в лучших клиниках мира это осложнение возникает в 1–4 % случаев [5].

1. Особенности клинического течения ИЭ

Различают острое (длительностью менее двух месяцев), подострое (длительностью более двух месяцев) и хроническое (употребляется крайне редко, в значении маломанифестного подострого течения ИЭ) течение болезни, а также первичный ИЭ, возникающий на неизменных клапанах сердца, и вторичный — развивающийся на измененных клапанах.

Клиническое течение ИЭ сильно варьирует в зависимости от причинного микроорганизма, наличия или отсутствия ранее существовавшего заболевания сердца и индивидуальных особенностей пациента. ИЭ может присутствовать в качестве острой быстро прогрессирующей инфекции, но также в подострой или хронической форме с нормальной температурой тела и неспецифическими симптомами, которые могут скрыть истинную картину или ввести в заблуждение при первичном обследовании. До 90 % пациентов с лихорадкой отмечают системные симптомы, такие как озноб, отсутствие аппетита и снижение веса. Шумы в сердце обнаруживаются у 85 % больных. Сосудистые и иммунологические проявления, такие как локальные кровоизлияния, пятна Рота и гломерулонефрит, обнаруживают у большинства пациентов, а эмболии мозга, легких или селезенки у 30 % больных [6]. Атипичные клинические проявления часто наблюдаются у пожилых или у иммунодефицитных пациентов, у которых лихорадка встречается реже, чем у более молодых людей [7]. У 5–6 % больных отмечаются признаки воспаления суставов в виде моно- или олигоартритов верхних и нижних конечностей.

В целом клиническая картина ИЭ складывается из инфекционно-токсического синдрома, сердечной недостаточности, эмболических и иммунологических осложнений с признаками поражения различных органов и систем.

Вследствие неспецифичности клинических проявлений ИЭ пациенты обращаются к различным врачам, которые могут подозревать целый ряд альтернативных диагнозов, в том числе хронические инфекции, ревматические, аутоиммунные и злокачественные заболевания.

Отсутствие патогномичных симптомов ИЭ, крайне высокий риск фатальных осложнений, быстрое развитие полиорганной патологии и декомпенсации сердечной недостаточности определяют актуальность ранней и достоверной диагностики заболевания.

2. Лабораторные признаки ИЭ

Обязательным условием развития ИЭ является наличие бактерий в крови — бактериемия. Однако наличия микробов в крови еще не достаточно, чтобы вызвать заболевание. У практически здоровых людей тоже иногда

встречается преходящая бактериемия. Для того чтобы микробы проявили патогенное действие, и произошла активация инфекции, необходимо значительное изменение иммунитета, поэтому возникновению ИЭ способствуют различные факторы, снижающие реактивность организма: болезни, интоксикации, переутомление, операции, беременность, роды, аборт и т. д. Циркулирующие в крови бактерии могут прикрепляться к эндокарду, особенно в измененных его участках. Нарушение кровотока возле пораженных клапанов способствует образованию тромботических наложений, которые становятся очагом оседания микроорганизмов.

В основе системных проявлений при ИЭ лежит генерализованная воспалительная реакция. При генерализации воспалительного процесса утрачивается изначально защитная функция локального воспаления, и одновременно реализуются механизмы системного повреждения. Поэтому, помимо данных результатов бактериологических исследований, при ИЭ отмечается увеличение лабораторных маркеров и медиаторов воспаления и (или) иммунных комплексов.

Общее количество лейкоцитов в крови у пациентов с ИЭ чаще в пределах референтных величин, у 25 % больных имеется умеренный лейкоцитоз, и лишь в некоторых случаях лейкоцитоз более выражен (от 12 до 20×10^9), у 30 % больных отмечается умеренная лейкопения. При исследовании лейкоцитарной формулы сдвиги со стороны нейтрофильного ростка крови обнаруживаются нечасто, у 15–20 % больных выявляется моноцитоз. По мере развития болезни количество эозинофилов уменьшается, или они исчезают полностью, а при выздоровлении их количество увеличивается до 12–15 %, а иногда и выше. Количество тромбоцитов в большинстве случаев уменьшено [8].

Одним из самых ранних и устойчивых показателей активности эндокардита является увеличение СОЭ. Обычно СОЭ резко увеличивается в пределах 40–60 мм/час и выше. Под влиянием эффективного лечения СОЭ быстро снижается, что является дополнительным критерием правильного выбора терапии. Однако иногда эндокардит может протекать при незначительно повышенной или нормальной СОЭ, особенно в тех случаях, когда проводилось лечение антибиотиками. При врожденных пороках с полицитемией СОЭ может быть низкой (2–3 мм/час), несмотря на активный ИЭ. Развитие сердечной недостаточности также может снизить СОЭ до нормальных цифр. При устранении сердечной недостаточности СОЭ вновь увеличивается [9].

У большинства пациентов с ИЭ отмечается повышение уровня С-реактивного белка (СРБ) [10, 11]. СРБ является показателем активности патологического процесса у больных ИЭ.

У 30 % больных отмечается диспротеидемия в виде гиперглобулинемии. У половины больных находят значительные титры ревматоидного фактора, увеличение уровня иммуноглобулинов А, М, G.

ИЭ характеризуется угнетением деятельности костного мозга, поэтому одним из наиболее характерных признаков является анемия. Обычно выявляется уме-

ренная анемия (гемоглобин в пределах 80 г/л, число эритроцитов $3,0\text{--}4,0 \times 10^{12}$), у 15 % больных анемия резко выражена — гемоглобин ниже 50 г/л, эритроциты менее $2,5 \times 10^{12}$. С прогрессированием болезни анемия нарастает. При этом уровень гемоглобина снижается быстрее, чем число эритроцитов, анемия приобретает гипохромный, железодефицитный характер. При успешном лечении быстро нарастают ретикулоцитоз, гемоглобин и число эритроцитов.

В общеклиническом исследовании мочи выявляют макро- или микрогематурию, протеинурию, бактериурию и пиурию.

В силу низкой специфичности показателей общеклинического анализа крови, СОЭ, СРБ, диспротеинемии и изменений уровня иммунологических показателей они не были интегрированы в современные диагностические критерии. Тем не менее из-за сложностей диагностики ИЭ на ранних стадиях развития заболевания, неспецифичности клинических симптомов, отрицательных результатов исследования гемокультуры и неоднозначных данных эхокардиографических данных поиск ранних лабораторных маркеров ИЭ продолжается, о чем свидетельствуют многочисленные данные научных публикаций. В качестве возможных маркеров ИЭ рассматриваются прокальцитонин, липолисахарид-связывающий протеин, интерлейкины, факторы некроза опухоли и др.

Несмотря на неспецифичность изменений приведенных лабораторных показателей совместно с клиническими проявлениями ИЭ, данные лабораторных тестов играют важную роль в определении активности патологического процесса. Различают низкую, умеренную и высокую степени активности ИЭ [12].

Минимальная активность (I степень) характеризуется субфебрильной температурой (до 38 °С), очень медленной динамикой шумов сердца, медленным формированием пороков сердца. Потливость, ознобы, суставной синдром непостоянны. Могут отсутствовать эмболии, увеличение печени и селезенки, признаки поражения почек. Снижение массы тела, как правило, выражено умеренно [13].

При лабораторном исследовании крови отмечаются лейкоцитоз (менее 9×10^9 /л) или умеренная лейкопения, гипохромная анемия легкой степени тяжести (гемоглобин более 100 г/л, количество эритроцитов более $3,7 \times 10^{12}$ /л), ускорение СОЭ (менее 20 мм/час), умеренное увеличение иммуноглобулинов А, М, G [13].

В результатах биохимических тестов регистрируются незначительное увеличение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) (менее 50 МЕ/л), аланинаминотрансферазы (АЛТ) (менее 40 МЕ/л), креатинина (менее 88,4 мкмоль/л), глобулина (менее 40 %), общего белка (более 80 г/л) и альбумина (более 60 %). При исследовании свертывающей системы крови возможно повышение показателя протромбинового индекса (более 90 %), снижение концентрации фибриногена (менее 4 г/л). Уровень СРБ не превышает 40 мг/л [13].

Для умеренной степени активности (II степень) свойственны медленная динамика шумов сердца, медленное

формирование пороков сердца, повышение температуры тела до 38–39 °С. Потливость, озноб, суставной синдром, эмболии и поражение почек выражены нерезко. Снижение массы тела, увеличение размеров печени и селезенки выражены.

При лабораторном исследовании крови отмечаются лейкоцитоз (от 9 до 16×10^9 /л) или выраженная лейкопения, гипохромная анемия (гемоглобин 80–100 г/л, количество эритроцитов $3\text{--}3,7 \times 10^{12}$ /л), тромбоцитопения $100\text{--}180 \times 10^9$ /л, ускорение СОЭ до 20–40 мм/час, выраженное увеличение иммуноглобулинов А, М, G.

В результатах биохимических тестов регистрируются повышение активности АСТ до 50–100 МЕ/л, АЛТ до 40–100 МЕ/л, креатинина до 88,4–176,8 мкмоль/л, глобулина до 40–60 %, уменьшение общего белка (до 60–80 г/л), альбумина (до 40–60 %). При исследовании свертывающей системы крови характерно снижение протромбинового индекса (до 60–90 %), увеличение концентрации фибриногена (до 4–7 г/л). Уровень СРБ повышается до 90 мг/л.

Высокая степень активности (III степень) характеризуется быстрой динамикой шумов сердца и быстрым формированием пороков сердца, повышением температуры тела до 39–41 °С, обильными потами, ознобами, суставным синдромом, частыми эмболиями, значительным уменьшением массы тела, гепатоспленомегалией и частым поражением почек.

При лабораторном исследовании крови отмечаются гиперлейкоцитоз (свыше 16×10^9 /л) или выраженная лейкопения, тяжелая гипохромная анемия (гемоглобин менее 80 г/л, количество эритроцитов менее 3×10^{12} /л), тромбоцитопения (менее 100×10^9 /л), ускорение СОЭ (свыше 40 мм/час), увеличение иммуноглобулинов А, М, G. В результатах биохимических тестов возможно увеличение активности АСТ (свыше 100 МЕ/л), АЛТ (свыше 100 МЕ/л), креатинина (более 176,8 мкмоль/л), глобулина (более 60 %), уменьшение концентрации общего белка (менее 60 г/л) и альбумина (менее 40 %). При исследовании свертывающей системы крови регистрируются снижение показателя протромбинового индекса (менее 60 %), увеличение концентрации фибриногена (свыше 7 г/л). Уровень СРБ может превышать 90 мг/л [14].

3. Критерии диагностики ИЭ

С 1994 года при постановке диагноза инфекционного эндокардита используются критерии Duke [15]. В 2000 году критерии Duke были пересмотрены и модифицированы Европейским обществом кардиологов (ЕОК) и изложены в виде рекомендаций Европейского общества кардиологов по профилактике, диагностике и лечению инфекционного эндокардита 2000 года. Рекомендации обобщили и оценили все имеющиеся доказательства по проблемам ИЭ с целью оказания помощи практическим врачам при принятии клинических решений с учетом влияния на исход, а также соотношение риска и пользы диагностических или терапевтических процедур. В дальнейшем критерии Duke пересматри-

вались и модифицировались ЕОК в 2004 и 2009 годах. В октябре 2015 года ЕОК выпустило новые рекомендации по ведению инфекционного эндокардита [16]. Эти рекомендации были разработаны путем консенсуса экспертов после тщательного изучения научных публикаций по проблемам ИЭ. Модифицированные критерии Duke для диагностики инфекционного эндокардита приведены ниже.

Модифицированные критерии Duke для диагностики ИЭ

Большие критерии ИЭ

1. Положительный посев крови, характерный для ИЭ:
 - а) типичные микроорганизмы, выделенные в двух отдельных культурах крови:
 - *Viridans streptococci*, *Streptococcus gallolyticus* (*Streptococcus bovis*), HACEK group, *Staphylococcus aureus* или
 - внебольничные (community-acquired) *enterococci* в отсутствие первичных очагов или
 - б) микроорганизмы, ассоциирующиеся с ИЭ, в постоянно положительной гемокультуре:
 - более 2 положительных гемокультур, взятых с интервалом более 12 часов друг от друга или
 - все 3 или более 4 раздельно взятых культур крови (взятых с интервалом более 1 часа друг от друга) или
 - в) один положительный посев крови на *Coxiella burnetii* или выявление антител IgG в 1 фазе в титре выше 1: 800.
2. Данные методов визуализации, позитивные для ИЭ:
 - а) эхокардиограмма, положительная для ИЭ:
 - вегетации,
 - абсцесс, псевдоаневризма, внутрисердечная фистула,
 - клапанная перфорация или аневризма,
 - новая частичная несостоятельность протезированного клапана;
 - б) аномальная активность вокруг места имплантации протезированного клапана, обнаруженная с использованием меченой ¹⁸F деоксиглюкозой (флюородеоксиглюкозой) позитронно эмиссионной томографией / компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) (только если протез был имплантирован в течение более трех месяцев) или с использованием меченых радиоизотопами (¹¹¹In-oxime или ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneamine oxime) лейкоцитов однофотонной эмиссионной компьютерной томографией;
 - в) несомненные признаки параваскулярного поражения сердца при компьютерной томографии.

Малые критерии

1. Предрасположенность: предрасполагающие болезни сердца или инъекции наркотиков.
2. Лихорадка: температура тела выше 38 °C.
3. Сосудистые явления (в том числе обнаруженных эмболий только): большие артериальные эмболии, септические легочные инфаркты, инфекционные

(грибковые) аневризмы, внутричерепные кровоизлияния, конъюнктивальные кровоизлияния, поражения Janeway.

4. Иммунологические проявления: гломерулонефрит, узлы Ослера, пятна Рота и ревматоидный фактор.
5. Микробиологические признаки: положительная культура крови, но нет большого критерия или серологического признака активной инфекции с возбудителем, соответствующим ИЭ.

Согласно рекомендациям по ведению инфекционного эндокардита 2015 года ЕОК диагноз этого заболевания может быть несомненным, вероятным или отвергнут при наличии альтернативного.

Диагноз ИЭ является несомненным при наличии:

- а) патологических критериев:
 - микроорганизмы продемонстрировали культуру, или при гистологическом исследовании выявлены вегетации, вегетации эмболизированы, или выявлен типичный внутрисердечный абсцесс, или
 - патологические очаги, вегетации или внутрисердечный абсцесс (подвижные вегетации на клапанах сердца, абсцессы в области протеза клапана), выявленные при гистологическом исследовании, указывают на активный эндокардит;
- б) клинических критериев:
 - два больших критерия или
 - один большой критерий и три малых критерия или
 - пять малых критериев.

Диагноз «вероятный ИЭ» выставляется при наличии признаков, которые не соответствуют ни наличию, ни отсутствию ИЭ:

- один большой критерий и один малый критерий или
- три малых критерия.

Диагноз ИЭ исключается при:

1. наличии твердого альтернативного диагноза;
2. разрешении проявлений ИЭ на фоне кратковременной (менее четырех дней) терапии антибиотиками;
3. отсутствии морфологических доказательств ИЭ во время операции или аутопсии после кратковременной (менее четырех дней) терапии антибиотиками;
4. не отвечает критериям вероятного ИЭ, приведенным выше.

Учитывая последние опубликованные в научной литературе данные, целевая группа по изучению ИЭ предложила внести три дополнительных пункта в диагностические критерии:

1. выявление паравальвулярных поражений при компьютерной томографии сердца необходимо считать большим критерием;
2. при подозрении на эндокардит протезного клапана, аномальная активность вокруг места имплантации, обнаруженная с использованием меченой ¹⁸F деоксиглюкозой ПЭТ/КТ (только если протез был имплан-

тирован в течение более трех месяцев) или с использованием меченных радиоизотопами (^{111}In -oxine или $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hexamethylpropyleneamine oxime) лейкоцитов однофотонной эмиссионной компьютерной томографией следует считать большим критерием;

3. выявление только путем визуализации недавних тромбозомболических событий или инфекционных аневризм (молчаливые события) следует считать малым критерием.

Таким образом, эхокардиография и культура крови по-прежнему остаются краеугольным камнем в диагностике ИЭ. Критерии Duke, основанные на клинических, эхокардиографических и микробиологических признаках, обеспечивают высокую чувствительность и специфичность (примерно 80 %) для диагностики ИЭ.

4. Методы лабораторной диагностики ИЭ

Инфекционный эндокардит является полиэтиологичным заболеванием. В настоящее время в качестве возбудителей болезни известны более 120 микроорганизмов. Важнейшую роль в установлении этиологического фактора ИЭ играют различные микробиологические методы исследования. Морфологическим субстратом болезни являются вегетации — образования, состоящие из микробных колоний, тканевого детрита, форменных элементов крови и фибрина. Объективным лабораторным методом, подтверждающим наличие субстрата ИЭ, служит, наряду с методами визуализации, гистологическое исследование. Практическое значение микробиологических и гистологических методов исследования в установлении этиологии заболевания и постановке самого диагноза ИЭ настолько велико, что в рекомендациях по ведению инфекционного эндокардита 2015 года Европейского общества кардиологов применяются специальные термины «микробиологический диагноз» и «гистологический диагноз» ИЭ.

4.1. Микробиологические исследования

Основное значение среди возбудителей ИЭ имеют грамположительные кокки (представители родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*), грамотрицательные бактерии (бактерии группы НАСЕК [*Haemophilus*, *Actinobacillus actinomycetecomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella Kingae*] и другие грамотрицательные бактерии [*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella*]), грибы (*Candida*, *Aspergillus*). В последние десятилетия основными возбудителями инфекционного эндокардита стали эпидермальный и золотистый стафилококки, которые выделяют у 75–80 % лиц с положительной гемокультурой. Наряду с этим увеличилось количество случаев ИЭ, вызванного анаэробной микрофлорой (8–12 %). Кроме этого, вырос удельный вес грамотрицательных бактерий группы НАСЕК (4–21 %) и грибов (до 4–7 %) [17].

Микробиологический посев крови, выделение чистой культуры, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам остаются

краеугольным камнем диагностики ИЭ. Согласно рекомендациям ЕОК 2015 года для исследования должны быть взяты по крайней мере три пробы крови по 10 мл каждая с интервалом 30 минут во флаконы с аэробной и анаэробной средами. Пробы крови должны быть взяты из периферической вены, а не из венозного катетера (из-за риска контаминации и вводящей впоследствии в заблуждение интерпретации результатов), с соблюдением строгих требований асептики.

Специалисты бактериологической лаборатории должны быть информированы о наличии у пациента клинических признаков ИЭ на момент взятия проб на гемокультуру.

В соответствии с результатами микробиологических исследований крови рекомендации ЕОК 2015 года выделяют две категории ИЭ.

1. Инфекционный эндокардит с положительными культурами крови

Это наиболее важная категория, составляющая около 85 % всех ИЭ. Каузативными микроорганизмами чаще всего являются стафилококки, стрептококки и энтерококки.

Необходимо стремиться взять пробы для исследования до назначения антибактериальных препаратов. Однако так как при ИЭ бактериемия является практически постоянной, то для клинической практики это имеет два последствия:

1. нет никаких оснований для затягивания времени и взятия проб крови на микробиологическое исследование на пике лихорадки;
2. практически все посеы крови положительны, поэтому один положительный посев крови должен рассматриваться с осторожностью для установления диагноза ИЭ.

Инкубацию проб крови следует проводить в автоматизированных бактериологических анализаторах, которые выполняют непрерывный мониторинг за бактериальным ростом и обеспечивают быстрое предоставление результатов врачам. Когда во флаконе выявляется положительная гемокультура, в бактериологической лаборатории должна быть осуществлена предварительная идентификация вида микроорганизма на основании окраски мазков по Граму. Эта информация немедленно доводится до сведения врача-клинициста в целях коррекции антибактериальной терапии. Полная идентификация вида микроорганизма обычно достигается в течение двух дней, но может потребоваться больше времени при выделении резистентных или атипичных микроорганизмов. Поскольку задержка во времени между получением положительной культуры крови и окончательной идентификацией микроорганизма, ответственного за бактериемию, и определением чувствительности к антибактериальным препаратам приводит к снижению эффективности лечения ИЭ. Клинические рекомендации ЕОК 2015 года предлагают использовать новые лабораторные технологии для ускорения процесса обнаружения и идентификации микроорганизмов.

В качестве современных лабораторных технологий для ускорения процесса обнаружения и идентификации

микроорганизмов ЕОК рекомендует использовать матрично-лазерную десорбцию / ионизацию МАЛДИ (англ. MALDI, Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization) с время-пролетной (англ. TOF, Time Of Flight) масс-спектрометрией (англ. MS, Mass Spectrometry). В технологии MALDI-TOF/MS идентификация микроорганизмов осуществляется на основе анализа белковых и пептидных спектров из выделенной в лаборатории чистой культуры. С помощью программного обеспечения сравнивается весь спектр масс белков и пептидов выделенной культуры со спектром имеющихся в базе данных известных микроорганизмов [18]. В рекомендациях указывается на то, что технология MALDI-TOF/MS может быть использована для идентификации микроорганизмов не только из чистой культуры, но и для прямой идентификации бактерий в надосадочной жидкости флакона с гемокультурой [19].

После идентификации микроорганизма посев крови следует повторить через 48–72 часа для оценки эффективности лечения.

2. Инфекционный эндокардит с отрицательными культурами крови

К ИЭ с отрицательными культурами крови относятся те формы ИЭ, при которых этиологические микроорганизмы невозможно вырастить, используя обычные методы посева крови. На ИЭ с отрицательными культурами крови приходится до 31 % всех случаев ИЭ, что часто создает значительные диагностические и терапевтические проблемы.

Чаще всего ИЭ с отрицательными культурами крови выявляется у пациентов, которые получали антибиотики по поводу неясной лихорадки перед тем, как были взяты пробы крови, и у которых не была проведена диагностика ИЭ. Обычно диагностика ИЭ рассматривается в условиях возобновления фебрильных эпизодов следующих после прекращения курса антибиотиков. Культура крови может оставаться негативной на протяжении многих дней после отмены антибиотиков, а возбудителями чаще всего являются пероральные стрептококки или коагулазо-негативный стафилококк.

ИЭ с отрицательными культурами крови может быть вызван грибами или прихотливыми микроорганизмами, в частности, облигатными внутриклеточными бактери-

ями. К таким микроорганизмам относятся питательно дефектный вариант стрептококков, редко встречающиеся грамтрицательные палочки группы НАСЕК и *Brucella*. ИЭ может вызываться такими внутриклеточными микроорганизмами, как *Coxiella burnetii*, *Bartonella*, хламидии и *Tropheryma whipplei* (возбудитель болезни Уиппла), что в целом составляет до 5 % всех ИЭ.

Выделение этих микроорганизмов требует культивирования их на специализированных средах, а их рост происходит относительно медленно. В связи с этим ЕОК рекомендует использовать для установления этиологии ИЭ серологические методы исследования (определение специфических антител и антигенов в сыворотке крови или моче), полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Рекомендации ЕОК по использованию лабораторных методов для этиологической диагностики ИЭ с отрицательными культурами крови приведены в табл. 1.

Следует констатировать, что рекомендации ЕОК 2015 года внесли существенные изменения в категоризацию ИЭ по результатам микробиологических исследований крови, так как предыдущие рекомендации ЕОК 2009 года выделяли четыре категории ИЭ:

1. инфекционный эндокардит с положительными культурами крови;
2. инфекционный эндокардит с отрицательными культурами крови из-за предварительного лечения антибиотиками;
3. инфекционный эндокардит, часто ассоциирующийся с негативными культурами крови;
4. инфекционный эндокардит, связанный с постоянно негативными культурами крови.

Сокращение категорий ИЭ по результатам микробиологических исследований крови с четырех до двух ничего не меняет для специалистов лабораторной диагностики и связано, по-видимому, с тем, что излишняя детализация категорий ИЭ не принесла практической пользы в отношении выбора адекватной тактики лечения пациентов с ИЭ.

4.2. Серологические исследования

Серологические методы исследования позволяют выявить специфические антитела и (или) антигены в сы-

Таблица 1
Рекомендации ЕОК 2015 года по использованию лабораторных методов для этиологической диагностики ИЭ

Патоген	Метод диагностики
<i>Brucella</i> spp.	Посев крови, серология, культура, иммунология и ПЦР хирургического материала
<i>Coxiella burnetii</i>	Серология (антитела IgG фаза 1 в титре выше 1 : 800), культура тканей, иммунология и ПЦР хирургического материала
<i>Bartonella</i> spp.	Посев крови, серология, культура, иммунология и ПЦР хирургического материала
<i>Tropheryma whipplei</i>	Гистология и ПЦР хирургического материала
<i>Mycoplasma</i> spp.	Серология, культура, иммунология и ПЦР хирургического материала
<i>Legionella</i> spp.	Посев крови, серология, культура, иммунология и ПЦР хирургического материала
<i>Fungi</i>	Посев крови, серология, ПЦР хирургического материала

воротке крови или моче. Согласно ЕОК проведение серологических исследований рекомендуется для обнаружения таких этиологических факторов ИЭ, как *Coxiella burnetii*, *Bartonella spp.*, *Aspergillus spp.*, *Mycoplasma pneumonia*, *Brucella spp.* и *Legionella pneumophila*.

Coxiella burnetii и виды *Bartonella* могут быть легко обнаружены серологическим тестированием с помощью непрямой иммунофлюоресценции или иммуноферментного анализа (ИФА). Обнаружение антител класса IgG к *Coxiella burnetii* в титре выше 1 : 800 является подтверждением этиологии ИЭ [20].

Для выявления антигена легионелл в моче используют метод ИФА, который обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью (90,0–95,0 и 95,0–99,9 % соответственно). Быстрая диагностика легионеллеза (в течение 15 минут) возможна путем обнаружения антигена легионелл в моче методом прямой иммунофлюоресценции или иммунохроматографии. Серологические методы позволяют выявлять в крови больного специфические антитела классов IgM и IgG к легионеллам. Одновременное определение антител IgM и IgG позволяет выявить до 99 % всех микоплазменных инфекций [21].

Для обнаружения антигенов грибов *Candida* и *Aspergillus* в крови применяют метод ИФА, который обладает чувствительностью в отношении выявления кандидозного антигена (маннан) 65–70 % при специфичности 100 %, чувствительность метода по выявлению антигена (галактоманн) аспергилл составляет 50–60 %, при повторном исследовании достигает 90 %, специфичность 90–100 % [20, 21].

4.3. Полимеразная цепная реакция

ПЦР-диагностика позволяет обнаружить возбудителя на самых ранних этапах инфекционного процесса в любой биологической среде организма с возможностью количественного определения микроорганизмов.

В рекомендациях ЕОК указывается на то, что в большинстве опубликованных результатов исследований с использованием ПЦР при ИЭ с отрицательными культурами крови продемонстрирована эффективность метода в установлении этиологии болезни в отношении *Streptococcus gallolyticus* и *Streptococcus mitis*, *enterococci*, *S. aureus*, *Escherichia coli* и прихотливых микроорганизмов, а также *Tropheryma whippelii*, *Bartonella spp.* и грибов (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*), обнаружение которых в крови варьирует в зависимости от состояния пациента.

Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью, но имеет свои недостатки: ложноотрицательные результаты, невозможность получить сведения относительно бактериальной чувствительности к антибактериальным препаратам. Позитивная ПЦР может наблюдаться месяцами после успешного лечения [22].

Несмотря на то что положительную ПЦР рекомендуется использовать как основной диагностический критерий для ИЭ, данный метод не может заменить основной диагностический метод микробиологического исследования крови.

Исследование биологического материала из удаленных клапанов или эмболического материала методом ПЦР должно проводиться у пациентов с отрицательными культурами крови, которые подвергаются оперативному лечению [23].

4.4. Гистологические и иммуногистологические исследования

Гистологическое исследование резецированных клапанов или эмболических фрагментов остается «золотым стандартом в диагностике ИЭ. Все образцы тканей, которые были удалены в ходе хирургического лечения ИЭ, должны быть собраны в стерильный контейнер без фиксирующих растворов или культуральной среды и отправлены на исследование в гистологическую и бактериологическую лаборатории (проводится классическое микробиологическое исследование).

Гистологическое исследование позволяет обнаружить характерные для ИЭ изменения (вегетации) на клапанном и париетальном эндокарде, в области аномальных артерио-артериальных и артерио-венозных шунтов, в зоне коарктации аорты. Иммуногистологическое исследование с помощью специальных красителей или специфических моноклональных антител со специальной меткой позволяет провести идентификацию микроорганизмов. Выявление возбудителя в резецированной ткани клапана или эмболических фрагментах при проведении гистологического исследования имеет большое значение для подтверждения диагноза ИЭ в случаях отрицательного результата микробиологического исследования крови, а также для определения оптимальных схем антибактериальной терапии после хирургического лечения при наличии признаков активности ИЭ.

4.5. Иммунологические исследования

В клинических ситуациях, когда результаты всех лабораторных исследований по обнаружению этиологического фактора ИЭ отрицательные, должен быть рассмотрен вариант диагноза неинфекционного эндокардита. Для его подтверждения ЕОК рекомендует провести следующие лабораторные исследования:

1. определение уровня антинуклеарных антител в сыворотке крови;
2. определение уровня антикардиолипиновых антител класса IgG и (или) IgM методом стандартного ИФА для β -2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипиновых антител в сыворотке крови.

Определение уровня антинуклеарных антител направлено на подтверждение наличия у пациента какого-либо заболевания из группы ревматических болезней, наиболее часто системной красной волчанки с ее проявлением в виде эндокардита Либмана-Сакса и ревматоидного артрита. Для подтверждения антифосфолипидного синдрома рекомендуется определение уровня антикардиолипиновых антител класса IgG и (или) IgM методом стандартного ИФА для β -2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипиновых антител [24].

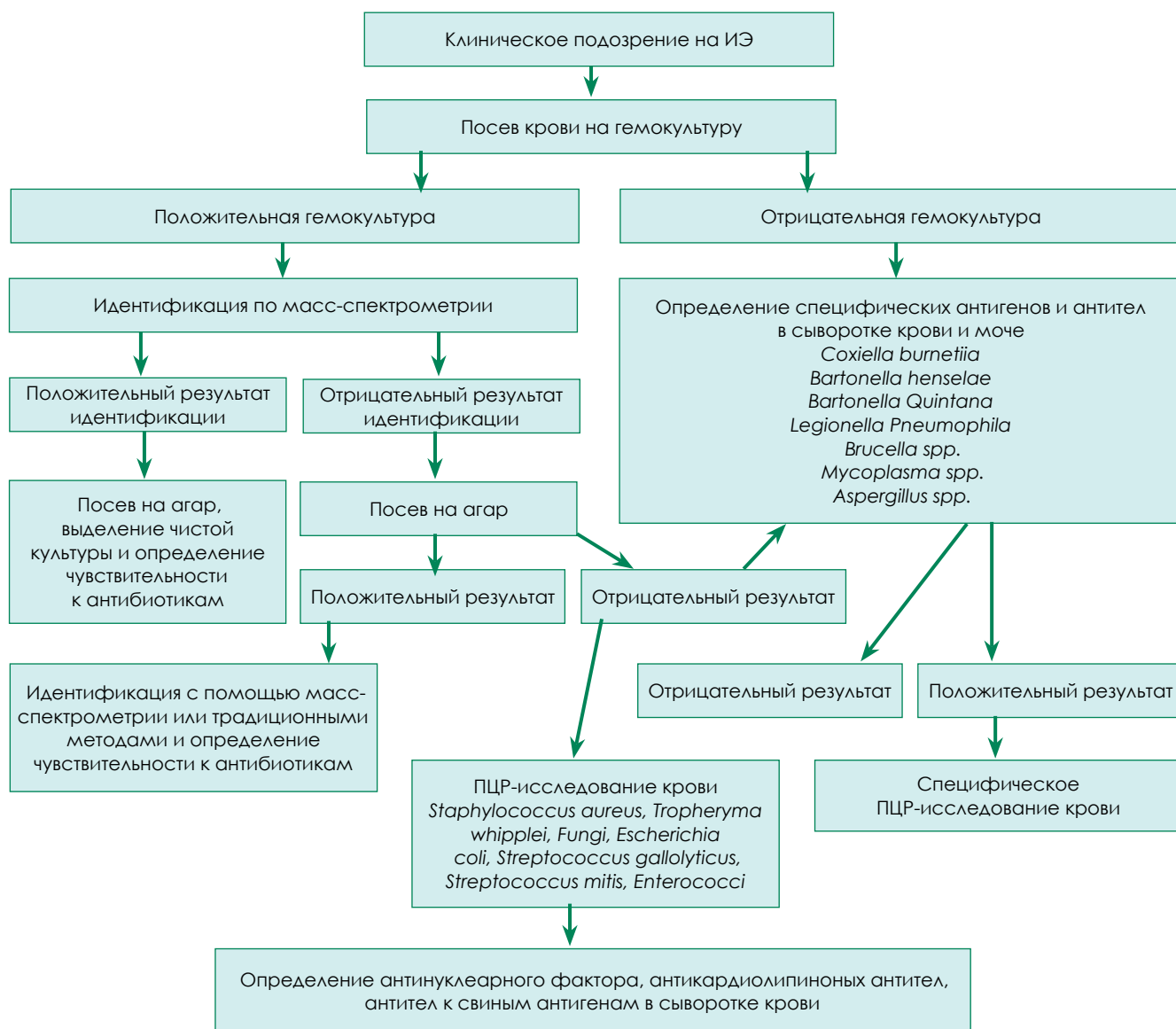


Рисунок 1. Алгоритм этиологической диагностики ИЭ.

При отрицательных результатах этих тестов и наличии у пациента свиного биопротеза сердечного клапана необходимо определить в крови уровень антител к свиным антигенам.

5. Алгоритм этиологической диагностики ИЭ

В основе успешного лечения ИЭ лежит достижение эрадикации микроорганизмов путем назначения бактерицидных доз антибактериальных препаратов. Выбор оптимальных схем и режимов лечения ИЭ в рекомендациях ЕОК 2015 года по-прежнему базируется на этиологическом возбудителе ИЭ. Появление большого количества опубликованных данных в отношении эффективности различных лабораторных методов этиологической диагностики ИЭ позволило ЕОК разработать новый диагностический алгоритм, который приведен на рис. 1.

При возникновении клинического подозрения на ИЭ необходимо немедленно провести забор проб крови

на микробиологическое исследование. При получении положительной гемокультуры в течение 48 часов проводится идентификация микроорганизма, и определяется его чувствительность к антибактериальным препаратам. В случае, если клиническое подозрение на ИЭ сохраняется, а результаты посевов крови на гемокультуру в течение 48 часов отрицательные, то рекомендуемой ЕОК стратегией является определение специфических антигенов и антител в сыворотке крови и моче в отношении возможных этиологических агентов, приведенных в алгоритме, с последующим проведением специфического ПЦР-исследования крови в отношении подозреваемого микроорганизма.

Такая стратегия позволяет в большинстве случаев установить этиологический фактор ИЭ, а главное, существенно сократить время на идентификацию и повысить эффективность лечения. Другими словами, если в течение 48 часов после взятия проб крови роста микроорганизмов

во флаконах с гемокультурой нет, ждать нельзя — необходимо использовать другие методы этиологической диагностики ИЭ.

6. Заключение

Основными целями нашего исследования была необходимость ознакомить специалистов различных медицинских лабораторий и врачей-клиницистов с возможностями современных лабораторных технологий в отношении диагностики ИЭ и дать рекомендации по их использованию с позиций доказательной медицины.

С позиций доказательной медицины врач клинической лабораторной диагностики и врач-клиницист должны иметь представления о научно обоснованных критериях постановки диагноза, определения прогноза, целей и методах лечения. Главная идея доказательной медицины очень проста: применение на практике только тех методов диагностики и лечения, эффективность которых доказана на основе строгих научных принципов в результате клинических исследований.

Представленный анализ роли лабораторных методов исследования при ведении больных ИЭ и рекомендаций по ведению инфекционного эндокардита 2015 года Европейского общества кардиологов не только характеризует возможности методов лабораторной диагностики в отношении клинической практики, но и в соответствии с принципами доказательной медицины демонстрирует взаимосвязь их возможностей, стратегию и последовательность применения, эффективность в каждой конкретной клинической ситуации.

Список литературы

1. Duval X., Delahaye F., Alla F., Tattévin P., Obadia J. F. et al. Temporal trends in infective endocarditis in the context of prophylaxis guideline modifications: three successive population-based surveys. // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2012. — Vol. 59. — P. 1968–1976.
2. Тюрина Т. В. Распространенность и клинические варианты инфекционного эндокардита: Автореф. дис. кандидата мед. наук. — СПб., 1997. — 21 с.
3. Николаевский Е. Н., Солдатенко М. В. Инфекционный эндокардит: современные особенности развития и течения. // *Сибирский медицинский журнал.* — 2002. — № 3. — С. 78–85.
4. Bannay A., Hoen B., Duval X., Obadia J. F., Seltón-Suty C. et al. The impact of valve surgery on short- and long-term mortality in left-sided infective endocarditis: do differences in methodological approaches explain previous conflicting results? // *Eur. Heart. J.* — 2011. — Vol. 32. — P. 2003–2015.
5. Pierce D., Calkins B. C., Thornton K. Infectious endocarditis: diagnosis and treatment. // *Am. Fam. Physician.* — 2012. — Vol. 85(10). — P. 981–6.
6. Daniel W. G., Mugge A., Martin R. P., Lindert O., Hausmann D., Nonast-Daniel B., Laas J., Lichtlen P. R. Improvement in the diagnosis of abscesses associated with endocarditis by transesophageal echocardiography. // *N. Engl. J. Med.* — 1991. Vol. 324. — P. 795–800.
7. Perez de Isla L., Zamorano J., Lennie V., Vazquez J., Ribera J. M., Macaya C. Negative blood culture infective endocarditis in the elderly: long-term follow-up. // *Gerontology.* — 2007. — Vol. 53. — P. 245–249.
8. Murdoch D. R., Corey G. R., Hoen B., et al. Clinical presentation, etiology, and outcome of infective endocarditis in the 21st century: the International Collaboration on Endocarditis-Prospective cohort Study. // *Arch. Intern. Med.* — 2009. — Vol. 169. — P. 463–73.
9. Crawford M. H., Durack D. T. Clinical presentation of infective endocarditis. // *Cardiol. Clin.* — 2003. — Vol. 21. — P. 159–66.
10. Виноградова Т. А. Инфекционный эндокардит: современное течение. // *Клиницист.* — 2011. — № 3. — С. 4–9.
11. Deviri E., Glenville B. E. Inflammatory response in infective endocarditis. // *Eur. J. Inflamm.* — 2007. — Vol. 5(2). — P. 57–63.
12. Habib G., Hoen B., Tornos P. et al. ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. // *Eur. Heart. J.* — 2009. — Vol. 30. — P. 2369–413.
13. Fernandez-Hidalgo N., Almirante B., Tornos P., Pigrau C., Sambola A., Igual A., Pahisa A. Contemporary epidemiology and prognosis of health care-associated infective endocarditis. // *Clin. Infect. Dis.* — 2008. — Vol. 47. — P. 1287–1297.
14. Тюрин В. П. Инфекционные эндокардиты. — М.: ГЭОТАР Медиа, 2001. 224 с.
15. Durack D. T., Lukes A. S., Bright D. K. New criteria for diagnosis of infective endocarditis: utilization of specific echocardiographic findings: Duke Endocarditis Service. // *Am. J. Med.* — 1994. — Vol. 96. — P. 200–209.
16. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *European Heart Journal* doi:10.1093/eurheartj/ehv319.
17. Lamas C. C., Etkyn S. J. Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. // *Heart.* — 2003. — Vol. 89. — P. 258–262.
18. Fenollar F., Goncalves A., Esterni B., Azza S., Habib G., Borg J. P., Raoult D. A serum protein signature with high diagnostic value in bacterial endocarditis: results from a study based on surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. // *J. Infect. Dis.* — 2006. — Vol. 194. — P. 1356–1366.
19. La Scola B., Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. // *PLoS One* 2009; 4: e8041.
20. Raoult D., Casalta J. P., Richet H., Khan M., Bernit E., Rovey C., Branger S., Gourié F., Imbert G., Bothello E., Collart F., Habib G. Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis. // *J. Clin. Microbiol.* — 2005. — Vol. 43. — P. 5238–5242.
21. Fournier P. E., Thuny F., Richet H., Lepidi H., Casalta J. P., Arzouni J. P., Maurin M., Celard M., Mainardi J. L., Caus T., Collart F., Habib G., Raoult D. Comprehensive diagnostic strategy for blood culture-negative endocarditis: a prospective study of 819 new cases. // *Clin. Infect. Dis.* — 2010. — Vol. 51. — P. 131–140.
22. Millar B., Moore J., Mallon P., Xu J., Crowe M., McClurg R., Raoult D., Earle J., Hone R., Murphy P. Molecular diagnosis of infective endocarditis — a new Duke's criterion. // *Scand J. Infect. Dis.* — 2001. — Vol. 33. — P. 673–680.
23. Rovey C., Greub G., Lepidi H., Casalta J. P., Habib G., Collart F., Raoult D. PCR detection of bacteria on cardiac valves of patients with treated bacterial endocarditis. // *J. Clin. Microbiol.* — 2005. — Vol. 43. — P. 163–167.
24. Loyens M., Thuny F., Grisoli D., Fournier P. E., Casalta J. P., Vitte J., Habib G., Raoult D. Link between endocarditis on porcine bioprosthetic valves and allergy to pork. // *Int. J. Cardiol.* — 2013. Vol. 167. — P. 600–602.

