

## МИКРОФЛОРА РЕЗЕЦИРОВАННЫХ КЛАПАНОВ ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИОННЫМ ЭНДОКАРДИТОМ

Н. И. Габриэлян\*, Е. М. Горская, Л. И. Арефьева, М. Л. Семеновский, Т. С. Спирина, Л. Ю. Ромашкина, Т. Ф. Саид

ФГБУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» (директор — академик РАМН С. В. Готье) Минздравсоцразвития РФ, Москва

*Цель.* Ретроспективный анализ микрофлоры клапанов сердца и сосудов после реконструктивных операций.

*Материал и методы.* В ретроспективное исследование за 2006–2011 гг. включен микробиологический анализ микрофлоры клапанов сердца и сосудов, а также гемокультур 234 пациентов 18–76 лет с инфекционным эндокардитом. *Результаты.* Из 266 выделенных из клапанов по стандартной методике микроорганизмов подавляющая часть (89,1%) относилась к грамположительным. Лидирующими среди них были коагулазоотрицательные стафилококки, энтерококки и стрептококки. Среди грамотрицательных микробов большинство составляли неферментирующие бактерии и энтеробактерии. Более 80% стафилококков были метициллинрезистентными, а энтеробактерии продуцировали бета-лактамазы широкого спектра действия. Преобладающие виды стрептококков относились к одонтогенным и кариогенным. При исследовании гемокультур пациентов выявлено, что в 1/3 случаев источником бактерий служит микрофлора клапанов.

*Заключение.* Результаты подтвердили важность исследования микрофлоры резецированных клапанов и гемокультур оперированных пациентов для подбора тактики профилактики инфекционных осложнений.

Ключевые слова: реконструктивные операции на сердце и сосудах, микрофлора клапанов, инфекционные осложнения.

### Microflora of resected valves in patients with infective endocarditis

N. I. Gabrielyan, E. M. Gorskaya, L. I. Arefieva, M. L. Semenovskiy, T. S. Spirina, L. Yu. Romashkina, T. F. Said

Academician V. I. Shumakov Federal Scientific Center of Transplantology and Artificial Organs, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow

*Objective.* The aim of the study was to perform the retrospective analysis of microflora of heart valves and vessels after reconstructive surgeries.

*Material and methods.* Retrospective study between 2006 and 2011 included microbiological analysis of microflora of heart valves and vessels and hemoculture in 234 patients aged 18–76 years with infective endocarditis.

*Results.* Overwhelming part (89.1%) of 266 exposed valves according to standard method was referred to gram-positive microorganisms. Coagulazonegative staphylococci, enterococci and streptococci were the leading ones among them. Nonenzymatic bacteria and enterobacteria were the most common gram-negative microbes. More than 80% of staphylococci were methicillin-resistant; enterobacteria produced broad spectrum beta-lactamases. Predominant types of streptococci were odontogenous and cariogenous. Hemoculture study showed that valve microflora was the source of diagnosed bacteria in 1/3 of cases.

*Conclusion.* The results confirmed the importance of microflora study of resected valves and hemocultures in patients undergoing surgery in terms of prevention of infectious complications.

Key words: reconstructive cardiac and vascular surgeries, microflora of valves, infectious complications.

В течение последних десятилетий в большинстве стран мира отмечается рост числа заболеваний инфекционным эндокардитом (ИЭ). Это связывают с ослаблением иммунологической реактивности организма, повышением вирулентности возбудителей ИЭ, изменением демографической ситуации (увеличение численности лиц старше 60 лет), внутривенным употреблением наркотиков [1, 3, 4, 8, 12]. Важное условие развития ИЭ — повреждение эндокарда или эндотелия с последующим внедрением различных микроорганизмов, формирование биопленки на нативных клапанах. Если консервативная терапия не дает эффекта, происходит деструкция створок клапана, формируются вегетации больших размеров, развиваются абсцессы, что является показанием к хирургическому лечению [4, 11]. После резекции пораженных клапанов выполняются реконструктивные операции: протезирование митрального, аортального,

трикуспидального клапанов, в некоторых случаях — двух, трех.

Этиология возбудителей ИЭ продолжает интересовать исследователей. Вместе с тем недостаточно освещены вопросы связи микробов, выделяемых из резецированных клапанов и операционного материала, с видами оперированных клапанов (аортальный, митральный, трикуспидальный). Изучение этих вопросов и явилось целью настоящей работы.

### Материал и методы

В ретроспективное исследование, охватывающее 2006–2010 гг. и 10 мес. 2011 г., включены 234 пациента с ИЭ. Средний возраст пациентов составил 47 лет (от 18 до 76 лет). Пациенты поступали в стационар на различных стадиях эндокардита: 89 человек — в острой, 92 — в подострой стадии, у 53 пациентов был период ремиссии. Больным проводились операции по протез-

\*Габриэлян Нина Индзаровна, доктор мед. наук, зав. отделением эндотоксикозов и гнойно-септических осложнений. 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. E-mail: labgso@mail.ru

## Спектр микрофлоры резецированных клапанов

Микроорганизмы	Количество микробов, изолированных после операций				Итого
	ПМК	ПАК	ПТК	многоклапанное протезирование	
<i>CNS</i>	27 (42,2%)	20 (28,2%)	23 (47,9%)	28 (33,7%)	98 (36,8%)
<i>Staphylococcus (S.) aureus</i>	2 (3,1%)	6 (8,5%)	6 (12,5%)	4 (4,8%)	18 (6,8%)
<i>Enterococcus (E.) spp.</i>	9 (14,1%)	11 (15,5%)	4 (8,3%)	15 (18,1%)	39 (14,7%)
<i>Streptococcus (Str.) spp.</i>	11 (17,2%)	6 (8,5%)	—	8 (9,6%)	25 (9,4%)
<i>Aerococcus spp.</i>	2 (3,1%)	2 (2,8%)	2 (4,2%)	3 (3,6%)	9 (3,4%)
<i>Candida spp.</i>	1 (1,6%)	1 (1,4%)	2 (4,2%)	—	4 (1,5%)
Прочие грамположительные микробы	5 (7,8%)	9 (12,7%)	2 (4,2%)	9 (10,8%)	25 (9,4%)
Неферментирующие грамотрицательные микробы	4 (6,3%)	7 (9,9%)	6 (12,5%)	7 (8,4%)	24 (9,0%)
<i>Enterobacteriaceae (Ent.)</i>	3 (4,7%)	9 (12,7%)	3 (6,3%)	9 (10,8%)	24 (9,0%)
Всего микробов	64 (24,1%)	71 (26,7%)	48 (18,0%)	83 (31,2%)	266 (100,0%)
грамположительных	57 (89,1%)	55 (77,5%)	39 (81,3%)	67 (80,7%)	218 (82,0%)
грамотрицательных	7 (10,9%)	16 (22,5%)	9 (18,8%)	16 (19,3%)	48 (18,0%)

зированию митрального клапана (ПМК) — у 50, аортального клапана (ПАК) — у 54, трикуспидального клапана (ПТК) — у 32, многоклапанное протезирование было выполнено 51 пациенту. В нашем наблюдении 47 (20%) пациентов были с протезным эндокардитом.

Все больные в процессе предоперационной подготовки проходили необходимые стандартные клинические, биохимические, бактериологические исследования. Операционный материал (клапаны, вегетации и др.) помещали в сердечно-мозговой бульон с последующим культивированием при 37 °С. При признаках роста посев материала проводился на стандартизированные питательные среды фирмы Pronadisa (Испания) с целью выделения аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Идентификация выделенных микроорганизмов осуществлялась с помощью биохимических тест-систем API фирмы BioMerieux (Франция) и высокочувствительных компьютеризированных аналитических систем BBL BD Crystal (США). Исследование биологических свойств изолированных микроорганизмов (гемолизин-продукции, плазмокоагуляции и др.) проводили общепринятыми методами. Для диагностики бактериемий применялся способ культивирования гемокультур в автоматической системе VactAlert фирмы BioMerieux. При заборе крови соблюдались правила асептики, так же как при резекции клапанов. Взятие крови у одного больного осуществлялось 2–3 раза.

Определение чувствительности возбудителей к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом в соответствии со стандартами CLSI (ранее NCCLS). Метициллинрезистентность как маркер множественной устойчивости грамположительных бактерий к антибиотикам исследовали по чувствительности выделенных штаммов к дискам с оксациллином и цефокситином. Бета-лактамазную активность — маркер множественной устойчивости грамотрицательных бактерий определяли по чувствительности изолятов к дискам с цефотаксимом и цефотаксимом/клавуланатом, а также — с цефтазидимом и цефтазидимом/клавуланатом. Кроме того, для учета антибиотикочувствительности выделенных микробов использовали компьютерную систему Osiris фирмы BioRad (Франция) с экспертной про-

граммой, позволяющей учитывать природную резистентность микробов к антибиотикам, метициллинрезистентность и бета-лактамазную активность.

## Результаты и обсуждение

Всего выделено 266 штаммов микроорганизмов из исследованных клапанов 234 пациентов. Частота случаев роста микробов из клапанов составила 79,6%. Грамположительных микробов изолировано 218 (82%) и грамотрицательных — 48 (18%). Спектр выделенных микробов представлен в таблице.

Как видно по суммарным данным, среди выделенной грамположительной микрофлоры лидировали три группы микроорганизмов: коагулазоотрицательные стафилококки (*CNS*) — с частотой 36,8%, энтерококки — 14,7%, стрептококки — 9,4%. Золотистые стафилококки составили всего 6,8%. *CNS* были представлены широким спектром видов: *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. xyloxis*, *S. warneri*, *S. lugdunensis*. Около 50% штаммов относилось к *S. epidermidis* и *S. haemolyticus*. Большинство стафилококков (>80%), в том числе коагулазоотрицательных, оказались метициллинрезистентными (MRS+), то есть множественнорезистентными. Спектр стрептококков, выделенных из клапанов сердца, был следующим:

- *Str. viridans*;
- *Str. mitis*;
- *Str. acidominimus*;
- *Str. agalactiae*;
- *Str. sanguinis*;
- *Str. oralis*;
- *Str. salivarius*;
- *Str. mutans*;
- *Str. uberis*;
- *Str. iniae*.

Таким образом, почти все выделенные стрептококки являлись оральными или одонтогенными.

Среди энтерококков преобладали *E. faecalis*, реже изолировали *E. faecium*, *E. durans*, *E. sakazaki*. В ранге грамположительных микробов аэрококки составили 3,4%, грибы рода *Candida* — всего 1,5%, прочие грамположительные бактерии — 9,4%, к которым были отнесены микрококки, бациллы, коринебактерии. Из грамотрицательных бактерий неферментирующие бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*) и

энтеробактерии (клебсиеллы, энтеробактеры, *E. coli*) изолированы с частотой по 9%. Необходимо отметить, что штаммы энтеробактеров (их частота 3,6%) и *Klebsiella pneumoniae* (3,6%) обладали бета-лактамазами широкого спектра (БЛРС), то есть множественной резистентностью к антибиотикам. От 30 до 40% изолированных бактерий находились в ассоциациях.

Отдельно проанализирована микрофлора митрального, аортального, трикуспидального клапанов после операций по протезированию соответствующих клапанов. По сравнению с суммарными значениями микрофлоры, выделенной из всех клапанов, для митрального клапана особенностью было увеличение частоты выделения стрептококков, для аортального клапана – золотистых стафилококков и грамотрицательных микробов, для трикуспидального – двукратное увеличение процентного содержания золотистых стафилококков, тенденция к повышению уровня аэрококков, грибов рода *Candida* и неферментирующих грамотрицательных бактерий. Это можно объяснить тем, что практически во всех случаях инфекционное поражение трикуспидального клапана связывалось с регулярным употреблением наркотиков, и данный микробный состав весьма характерен для этой группы пациентов [8].

Представляло интерес сопоставление микрофлоры клапанов с микрофлорой гемокультуры от одних и тех же пациентов. Гемокультура была положительной у 42 (18%) пациентов из 234, совпадение роста микробов из клапанов и крови наблюдалось у 15 (35,7%) пациентов (звездочкой отмечены штаммы, выделенные от умерших больных):

- 1) *S. aureus*, *S. epidermidis*;
- 2) *S. aureus*, *S. epidermidis*;
- 3) *E. faecalis*;
- 4) *Ent. sakazaki*\*;
- 5) *S. aureus*\*;
- 6) *S. epidermidis*;
- 7) *E. faecalis*\*;
- 8) *S. epidermidis*;
- 9) *S. aureus*\*;
- 10) *Ent. aerogenes*;
- 11) *S. epidermidis*;
- 12) *Str. viridans*;
- 13) *E. faecalis*;
- 14) *E. faecalis*;
- 15) *S. epidermidis*.

В крови также имелось преобладание грамположительных микробов, повысился удельный вес золотистых стафилококков (23,5% против 6,8%, выделенных только из клапанов), а из грамотрицательных бактерий – энтеробактеров (23,5% против 3,6%). Поскольку имеется корреляция между спектром и частотой распределения микробов в клапанах и крови, можно говорить, что источником бактериемии в 1/3 случаев является микрофлора клапанов. Это подтверждается также тем, что у некоторых пациентов еще в дооперационном периоде в крови определялись те же микроорганизмы, которые были выделены после операции из клапанов.

Микрофлора операционного материала от больных с протезным эндокардитом принципиально не отличалась от микрофлоры клапанов пациентов с первичным нативным эндокардитом. Наиболее час-

тыми инфекционными осложнениями (ИО) у этих пациентов были вентиляторзависимые ИО в результате длительной (более 2 сут) ИВЛ и инфекции кровотока. Микрофлора клапанов не везде была ведущей причиной развития ИО. При вентиляционных бронхолегочных осложнениях присоединялась вторичная инфекция, вызванная чаще всего *P. aeruginosa*.

Таким образом, хирургическое вмешательство при септическом эндокардите позволяет максимально санировать очаг инфекции, которым и является клапан, предотвратить рецидив заболевания и более эффективно использовать антибактериальную терапию. Но не следует забывать о роли ИВЛ-зависимых инфекционных осложнений. Основным способом их профилактики является ранняя активизация больного и ранняя экстубация трахеи.

Обзор работ по хирургическому лечению ИЭ с исследованием микрофлоры клапанов показал, что к настоящему времени с помощью микробиологических и генетических методов выделено свыше 100 видов микроорганизмов [1, 6, 9, 10, 13–16]. Почти все известные виды условно-патогенных бактерий могут быть этиологической причиной ИЭ. На сегодняшний день к частым возбудителям ИЭ относят грамположительные факультативно-аэробные бактерии (стафилококки, стрептококки), грамотрицательные и анаэробные бактерии, грибы. По данным китайских исследователей, у 7240 пациентов с ИЭ естественных клапанов наиболее распространенными патогенами, изолированными из клапанов, были стрептококки (61%) и стафилококки (32%). Госпитальная летальность составила 18%. Независимыми предикторами смертности были респираторная, почечная недостаточность, различные виды стафилококков [12]. Некоторые авторы по-прежнему обращают внимание на оральные и периодонтальные бактерии, часто выделяемые из операционного материала, как на этиологическую причину ИЭ. Так, в работе японских исследователей проанализированы образцы клапанов от 203 пациентов. От этих же пациентов получены 58 образцов дентальных бляшек. Методом полимеразной цепной реакции установлено, что *Str. mutans* (известный кариогенный патоген) был наиболее часто определяемым микробом в кардиоваскулярных образцах (78% случаев) [14]. Подобные находки подтверждены и другими исследователями, выделившими кариогенные и одонтогенные стрептококки при ИЭ [9, 13]. Так, у пациента с пролапсом митрального клапана найден *Str. intermedius* после дентальной процедуры, вызвавший эмболию в сосуды мозга и вену ноги [9]. Описан эндокардит, вызванный *Str. acidominimus* [7]. Зелеными стрептококками – *Str. mutans*, *Str. mitis*, *Str. sanguinis*, *Str. salivarius*, *Str. intermedius* входят в состав микрофлоры полости рта. Важная роль зеленых стрептококков в этиологии ИЭ объясняется тем, что они нередко попадают в кровоток при мелких травмах слизистой рта.

По данным J. A. Al-Tawfiq и I. Sufi (Саудовская Аравия), наиболее частыми возбудителями ИЭ были *S. aureus* (42,6% случаев) и *E. faecalis* (22,2% случаев). При этом хирургическое вмешательство потребовалось в 31,4% случаев [5].

*CNS* и *S. aureus*, как известно, являются частью нормальной микрофлоры кожи и пищеварительного

тракта (транзитной или постоянной). У пациентов со сниженной резистентностью пищеварительного тракта при провоцирующих факторах (стресс, охлаждение, заболевания различных органов) и наличии дисбиозов открытых полостей тела может наблюдаться транслокация этих микробов в кровь и адгезия к ткани клапанов. В Национальном руководстве по кардиологии указывается, что около 85% случаев ИЭ обусловлено стафилококками, стрептококками или энтерококками [3].

В нашем исследовании преобладающими патогенами клапанов из 266 изолированных штаммов были грамположительные бактерии, причем с наибольшим содержанием коагулазоотрицательных стафилококков (36,8%). При сопоставлении микрофлоры клапанов и гемокультуры ( $n=45$ ) в 1/3 случаев частота выделения отдельных групп микробов была сходной, за исключением увеличения процента изолированных золотистых стафилококков и энтерококков. Госпитальные энтерококки, имеющие природную резистентность к ряду антибиотиков, часто вызывают разнообразные послеоперационные инфекционные осложнения [2]. Бактериемии, вызванные указанными вирулентными микроорганизмами, так же как и вентиляторзависимые легочные осложнения, являются ведущими причинами, обуславливающими тяжесть ИО. Об этом свидетельствует анализ инфекционных осложнений у тяжелых больных. Вторичная инфекция развивалась за счет бронхолегочных осложнений, вызванных чаще всего синегнойной палочкой, и за счет вторичной бактериемии. Стрептококки – патогены клапанов, выделенные в 7,4% случаев, отличались разнообразием видов и относились к одонтогенным.

На основании представленных данных можно предположить, что первоисточником обнаруженных в клапанах микробов является аутофлора полости рта, зева и кишечника, способная при снижении резистентности организма, появлении в сосудах механических частичек (у наркозависимых), стрессах транслоцироваться и тем или иным путем попадать в клапаны. Исследование антибиотикочувствительности выделенных из клапанов микроорганизмов показало, что большинство их были антибиотикорезистентными, что может объяснить безуспешность консервативной терапии и послужить доказательством необходимости более активной хирургической тактики. При первичном ИЭ не следует ожидать ремиссии, если 2–3-недельная антибиотикотерапия не дает клинических признаков эффекта. Это является показанием к хирургическому лечению ИЭ. При подборе адекватного лечения прооперированных пациентов нужно принимать во внимание микрофлору клапанов и чувствительность к антибиотикам выделенных из них микробов, так как результаты гемокультуры часто бывают негативными.

Пациенты, перенесшие оперативное лечение по поводу ИЭ, относятся к группе риска развития рецидива. В связи с этим им необходимо пролонгированное назначение антибиотиков с учетом возможного источника инфицирования (инвазивные процедуры, вызывающие бактериемию), а также лечение дисбак-

териозов желудочно-кишечного тракта с включением пробиотиков и бактериофагов.

### Выводы

1. При ретроспективном анализе микрофлоры ре-зецированных клапанов сердца и сосудов после реконструктивных операций за 2006–2011 гг. выделено 266 микроорганизмов (82% грамположительных и 18% грамотрицательных).

2. Ведущими среди грамположительных микробов были коагулазоотрицательные стафилококки, энтерококки и стрептококки, среди грамотрицательных – неферментирующие микробы и представители энтеробактерий. Основная часть стафилококков (более 80%) были метициллинрезистентными, а энтеробактерии продуцировали бета-лактамазы широкого спектра действия.

3. В 7,4% случаев из клапанов выделены различные виды одонтогенных стрептококков.

4. Совпадение роста микробов из клапанов и крови обнаружено у 15 (35,7%) пациентов из 42, то есть в 1/3 случаев источником выявленной бактериемии была микрофлора клапанов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л. А., Белобородова Н. В. Инфекция в кардиохирургии. М.: НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2007. 582 с.
2. Габриэлян Н. И., Горская Е. М., Спирина Т. С., Преображенская Т. Б. Энтерококки как возбудители послеоперационных инфекционных осложнений // Журн. эпидем., микробиол. и иммунобиол. 2007. № 4. С. 50–53.
3. Кардиология. Национальное руководство / Под ред. Ю. Н. Беленкова, Р. Г. Оганова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 1290 с.
4. Тюрин В. П. Инфекционные эндокардиты. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 368 с.
5. Al-Tawfiq J. A., Sufi I. Infective endocarditis at a hospital in Saudi Arabia: epidemiology, bacterial pathogens and outcome // Ann. Saudi Med. 2009. Vol. 29, № 6. P. 433–436.
6. Armstrong R. W. Endocarditis due to *Propionibacterium granulosum* // Clin. Infect. Dis. 1996. Vol. 23, № 5. P. 1178–1179.
7. Brachlow A., Awadallah S., Chatterjee A. Endocarditis due to *Streptococcus acidominimus* // Pediatr. Cardiol. 2003. Vol. 24, № 2. P. 161–163.
8. Brown P. D., Levin D. P. Infective endocarditis in the injection drug user // Infect. Dis. Clin. North. Am. 2002. Vol. 16, № 3. P. 645–665.
9. Cunha B. A., D'Elia A. A., Pawar N. et al. Viridans streptococcal (*Streptococcus intermedius*) mitral valve subacute bacterial endocarditis (SBE) in a patient with mitral valve prolapse after a dental procedure: the importance of antibiotic prophylaxis // Heart Lung. 2010. Vol. 39, № 1. P. 64–72.
10. Dreier J., Vollmer T., Freytag C. C. et al. Culture-negative infectious endocarditis caused by *Bartonella* spp.: 2 case reports and a review of the literature // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2008. Vol. 61, № 4. P. 476–483.
11. Kazui T., Doi H., Suzuki M. et al. Surgical treatment for infective endocarditis // Kyobu Geka. 2009. Vol. 62, № 9. P. 773–777.
12. Lee C. H., Tsai V. V. C., Liu P. Y. et al. Epidemiologic features of infective endocarditis in Taiwanese adults involving native valves // Am. J. Cardiol. 2007. Vol. 100, № 8. P. 1282–1285.
13. Malkin J., Kimmitt P. T., Ou H. Y. Identification of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *macedonicus* as the etiologic agent in a case of culture-negative multivalve infective endocarditis by 16S rDNA PCR analysis of resected valvular tissue // J. Heart Valve Dis. 2008. Vol. 17, № 5. P. 589–592.
14. Nakano K., Nemoto H., Nomura R. et al. Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens // Oral Microbiol. Immunol. 2009. Vol. 24, № 1. P. 64–68.
15. Palys E. E., Li J., Gaut P. L., Hardy V. V. D. Tricuspid valve endocarditis with Group B *Streptococcus* after an elective abortion: the need for new data // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 2006. Vol. 43. P. 253.
16. Wallef F., Lameyse A., Decoene C. et al. A case of mitral endocarditis due to *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* // Jpn. J. Infect. Dis. 2007. Vol. 60, № 4. P. 200–201.

Поступила после переработки 10.05.2012