

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА 16S рРНК МЕТАБАРКОДИНГА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЭТИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ИНФЕКЦИОННОГО ЭНДОКАРДИТА

DOI: 10.17691/stm2026.18.1.04

УДК 616.126–002:579.8

Поступила 22.04.2025 г.

- © **А.В. Сеницкая**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹;
А.Е. Костюнин, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины¹;
М.В. Хуторная, научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹;
А.О. Поддубняк, лаборант-исследователь лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹;
О.Н. Хрячкова, к.б.н., научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹;
М.А. Асанов, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹;
А.Е. Тупикин, младший научный сотрудник центра коллективного пользования «Геномика»²;
М.Р. Кабилов, к.б.н., руководитель центра коллективного пользования «Геномика»²;
А.Н. Стасев, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории пороков сердца отдела хирургии сердца и сосудов¹;
М.Ю. Сеницкий, к.б.н., зав. лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной медицины¹

¹Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, бульвар имени академика Л.С. Барбараша, 6, Кемерово, 650002;

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090

Цель исследования — оценить эффективность идентификации бактериальных агентов в нативных клапанах сердца, пораженных инфекционным эндокардитом, методом 16S рРНК метабаркодинга.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 20 образцов нативных клапанов сердца, полученных от 16 пациентов. Секвенирование проводили в Центре коллективного пользования «Геномика» (Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск) на секвенаторе MiSeq (Illumina, США), используя набор MiSeq Reagent Kit v. 3 (2×300 bp; Illumina, США).

Для контактов: Сеницкая Анна Викторовна, e-mail: seroav1991@gmail.com

Результаты. Выявлены мажорные микроорганизмы (доля которых в анализируемом образце составила более 5% от всех идентифицированных бактериальных агентов), относящиеся к родам *Streptococcus* (40% от всех проанализированных клапанов), *Sphingomonas* (35%), *Pseudomonas* (35%), *Roseateles* (25%), *Phyllobacterium* (25%) и *Enterococcus* (15%). Кроме того, в изученных клапанах обнаружены единичные случаи присутствия *Ralstonia pickettii* и представителей родов *Bacillus* и *Klebsiella*.

Заключение. Результаты исследования продемонстрировали эффективность метода 16S рРНК метабаркодинга для идентификации бактериальных агентов по сравнению с рутинными неинвазивными методами диагностики. Нативные клапаны сердца, удаленные у пациентов с инфекционным эндокардитом, характеризовались большим количеством условно-патогенных микроорганизмов при отрицательных результатах посева крови.

Ключевые слова: инфекционный эндокардит; бактериальные агенты; 16S метабаркодинг; нативные клапаны сердца.

Как цитировать: Sinitskaya A.V., Kostunin A.E., Khutornaya M.V., Poddubnyak A.O., Hryachkova O.N., Asanov M.A., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Stasev A.N., Sinitzky M.Y. 16S rRNA metabarcoding used to identify the etiology of infective endocarditis agents. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2026; 18(1): 45, <https://doi.org/10.17691/stm2026.18.1.04>

Это статья с открытым доступом, распространяемая по лицензии CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

English

16S rRNA Metabarcoding Used to Identify the Etiology of Infective Endocarditis Agents

A.V. Sinitskaya, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹;

A.E. Kostunin, PhD, Senior Researcher, Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine¹;

M.V. Khutornaya, Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹;

A.O. Poddubnyak, Laboratory Research Assistant, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹;

O.N. Hryachkova, PhD, Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹;

M.A. Asanov, Junior Researcher, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹;

A.E. Tupikin, Junior Researcher, Center for Collective Use "Genomics"²;

M.R. Kabilov, PhD, Head of the Center for Collective Use "Genomics"²;

A.N. Stasev, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Heart Defects, Department of Heart and Vascular Surgery¹;

M.Y. Sinitzky, PhD, Head of the Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine¹

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, 6 Academician Barbarash Blvd., Kemerovo, 650002, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8 Lavrentyev Prospekt, Novosibirsk, 630090, Russia

The aim of the study was to estimate the efficiency of identifying bacterial agents in native cardiac valves affected by infective endocarditis using 16S rRNA metabarcoding.

Materials and Methods. The study material involved 20 native cardiac valve samples from 16 patients. Sequencing was carried out in the Center for Collective Use "Genomics" (Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia) on a sequenator MiSeq (Illumina, USA) using MiSeq Reagent Kit v3 (2×300 bp; Illumina, USA).

Results. The study revealed major microorganisms (their portion in the sample under study was over 5% from all identified bacterial agents) belonging to *Streptococcus* (40% of all valves studied), *Sphingomonas* (35%), *Pseudomonas* (35%), *Roseateles* (25%), *Phyllobacterium* (25%), and *Enterococcus* (15%). Moreover, the studied valves were found to have rare cases of *Ralstonia pickettii*, as well as *Bacillus* and *Klebsiella* representatives.

Conclusion. The findings demonstrated the efficiency of 16S rRNA metabarcoding in identifying bacterial agents compared to routine noninvasive diagnostic methods. Native cardiac valves isolated from the patients with infective endocarditis were characterized by numerous opportunistic pathogenic bacteria in negative blood cultures.

Key words: infective endocarditis; bacterial agents; 16S metabarcoding; native cardiac valves.

Введение

Инфекционный эндокардит (ИЭ) — воспалительное заболевание преимущественно бактериальной природы, характеризующееся локализацией возбудителей на нативных клапанных структурах сердца, эндокарде, а также на протезах клапанов сердца и кардиостимуляторах [1]. Эпидемиологические исследования демонстрируют рост заболеваемости ИЭ и увеличение летальных исходов от осложнений, сопряженных с данным патологическим состоянием [2, 3]. Идентификация возбудителя является крайне важным аспектом диагностики ИЭ, что влияет на антибиотикотерапию и риск рецидива бактериемии у пациентов с протезированными клапанами сердца [4]. «Золотым стандартом» определения этиологии ИЭ считается микробиологический посев крови или ткани иссеченного клапана сердца. Однако стоит отметить, что в большинстве случаев результаты посевов являются отрицательными. В таких ситуациях, согласно действующим клиническим рекомендациям [5], возможно использование молекулярно-генетических методов (например, полимеразной цепной реакции) [6]. Предоперационная антибиотикотерапия, проводимая в стационаре, затрудняет обнаружение возбудителей стандартными методами, вследствие чего возрастает потребность в более точной диагностике и идентификации бактериальных агентов для снижения смертности от ИЭ [7].

На сегодняшний день одним из перспективных методов является секвенирование нового поколения (NGS), которое позволяет идентифицировать патогены в тех случаях, когда стандартные молекулярно-генетические тесты не дают положительного результата [8]. Стоит отметить, что чувствительность и специфичность данного метода выше для эксплантированной ткани, чем для периферической крови [9]. На начальном этапе метагеномного секвенирования 16S рПНК происходит амплификация переменных участков с использованием специфических праймеров, после чего осуществляется секвенирование полученного продукта, что позволяет идентифицировать бактериальный агент на уровне рода и вида. Ген 16S рПНК, который кодирует субъединицу рибосомы 16S, обнаружен во всех бактериях и включает в себя высококонсервативные области с переменными последовательностями [10]. Несомненным преимуществом данного метода является выявление бактериальной ДНК нежизнеспособных микроорганизмов, а также бактериальных агентов у пациентов после курса терапии антибиотиками [11].

Цель исследования — оценить эффективность идентификации бактериальных агентов в нативных клапанах сердца, пораженных инфекционным эндокардитом, методом 16S рПНК метабаркодинга.

Материалы и методы

Исследуемая группа. Материалом для исследования послужили 20 образцов нативных клапанов сердца, пораженных ИЭ, которые были получены от 16 пациентов во время кардиохирургического вмешательства. Стоит отметить, что в большинстве случаев преобладал левосторонний ИЭ, правосторонний наблюдался только у одного пациента.

Клиническая характеристика пациентов:
 мужской пол — 12 человек (75%);
 средний возраст (Me [Q1; Q3]) — 57,0 [35,0; 63,0] года;
 индекс массы тела (mean±SD) — 24,63±3,95;
 фракция выброса левого желудочка (mean±SD) — (63,64±9,50)%;
 легочная гипертензия — 10 пациентов (62,5%);
 гипертоническая болезнь — 7 пациентов (43,75%);
 хроническая сердечная недостаточность — 16 пациентов (100%);
 фибрилляция предсердий — 3 пациента (18,75%);
 острое нарушение мозгового кровообращения — 4 пациента (25%);
 хроническая болезнь почек — 8 пациентов (50%);
 хроническая обструктивная болезнь легких — 4 пациента (25%);
 антибиотики, принимаемые до госпитализации, — 12 пациентов (75%);
 пораженный клапан: аортальный, митральный и трикуспидальный — 9 (45%), 10 (50%) и 1 (5%) пациент соответственно.

Лабораторные показатели (Me [Q1; Q3]):
 лейкоциты — 7,20 [5,40; 9,30]·10⁹/л;
 нейтрофилы — 4,40 [2,90; 5,85]·10⁹/л;
 С-реактивный белок — 4,80 [2,00; 16,40] мг/л;
 скорость оседания эритроцитов — 18,0 [5,50; 51,50] мм/ч.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации (2024). Все участники подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Работа одобрена локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (протокол №1 от 26 января 2024).

Диагноз «инфекционный эндокардит» устанавливали на основе клинических, микробиологических и лабораторных данных, а также результатов эхокардиографии (эхоКГ). По данным эхоКГ, у всех пациентов, включенных в исследование, визуализировались подвижные вегетации на клапанах. Кроме того, диагноз был верифицирован в соответствии с международными критериями Дьюка. Исследуемым пациентам проводили забор периферической крови для микробиологического тестирования в трех

повторах с интервалом в 6 ч за неделю до оперативного вмешательства. Гистологическую окраску по Граму осуществляли посредством коммерческого набора (Abscam, Великобритания).

16S рPHK метабаркодинг. Из образцов эксплантированных клапанов выделяли ДНК с помощью набора HostZERO Microbial DNA Kit (Zymo Research, США). Регион V3–V4 гена 16S рPHK был амплифицирован с помощью праймеров 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), содержащих адаптерные последовательности (Illumina, США), линкер и баркод [12]. Амплификацию проводили в 20 мкл реакционной смеси (в трех повторях), содержащей 0,4 ЕД Hot Start Taq ДНК полимеразы («Биолабмикс», Россия) и однократный HS Taq ПЦР-буфер («Биолабмикс», Россия); по 0,2 мкМ прямого и обратного праймеров; 10 нг ДНК; 2,3 мМ MgCl₂ («Биолабмикс», Россия) и 0,2 мМ dNTP (Life Technologies, США). Количество циклов для каждого образца ДНК подбирали, проводя ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала в режиме реального времени на ДНК-амплификаторе CFX-96 (Bio-Rad, США). В качестве интеркалирующего флуорофора использовали краситель Eva488 (Lumiprobe, США). Условием выбора цикла являлось нахождение флуоресцентного сигнала на фазе линейного логарифмического роста. В случае низкой эффективности ПЦР максимальным количеством циклов было 34. Выход целевого продукта анализировали на приборе MultiNA с помощью набора 12000 DNA Base Pair Kit (Shimadzu, Япония). ПЦР проводили по следующей программе: 5 мин при 95°C; далее до 40 циклов — 15 с при 95°C, 15 с при 62°C, 30 с при 72°C; последний этап — 5 мин при 72°C. Ампликоны (по 200 нг каждый) объединяли и очищали при помощи магнитных частиц AMPure XP Beads (Beckman Coulter, США) согласно инструкции фирмы-производителя.

Секвенирование проводили в Центре коллективного пользования «Геномика» (Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск) на секвенаторе MiSeq (Illumina, США), используя набор MiSeq Reagent Kit v. 3 (2×300 bp; Illumina, США).

Количество ридов, полученных для каждого образца, определяли с помощью программы Seqkit [13]. Анализ качества проводили с использованием FastQC [14]. Парные последовательности анализировали с помощью UPARSE-скриптов [15], используя Usearch v. 11.0.667 [16]. Биоинформатическая обработка включала перекрытие парных ридов, фильтрацию по качеству и длине, учет одинаковых последовательностей, отбрасывание синглетонов, удаление химер и получение ОТЕ с помощью алгоритма кластеризации UPARSE [17]. Таксономическую принадлежность последовательностей ОТЕ определяли с помощью SINTAX [18] и референсной базы 16S RDP training set v. 19 [19].

Статистическую обработку данных проводили в программе Prism 8 (GraphPad Software, США). Количественные результаты представляли в виде среднего арифметического (M) и среднеквадратического отклонения (SD), а также медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей [Q1; Q3].

Результаты

Микробиологический анализ крови, выполненный в соответствии со стандартным протоколом, описанным в клинических рекомендациях [5], позволил установить этиологическую принадлежность ИЭ только в 25% случаев, в которых возбудители ИЭ были представлены грамположительными бактериями. При гистологической окраске по Граму иссеченных створок нативных клапанов сердца удалось идентифицировать бактериальные агенты в 45% случаев (см. таблицу). Методом 16S рPHK метабаркодинга в большинстве образцов выявлены мажорные микроорганизмы (доля которых в анализируемом образце составила более 5% от всех идентифицированных бактериальных агентов), относящиеся к родам *Streptococcus* (40% от всех проанализированных клапанов), *Sphingomonas* (35%), *Pseudomonas* (35%), *Roseateles* (25%), *Phyllobacterium* (25%) и *Enterococcus* (15%). Однако в основной массе митральных и небольшой доле аортальных клапанов практически полностью отсутствует разнообразие бактерий и присутствует только один мажорный род: либо *Streptococcus*, либо *Klebsiella* или *Enterococcus* (см. рисунок).

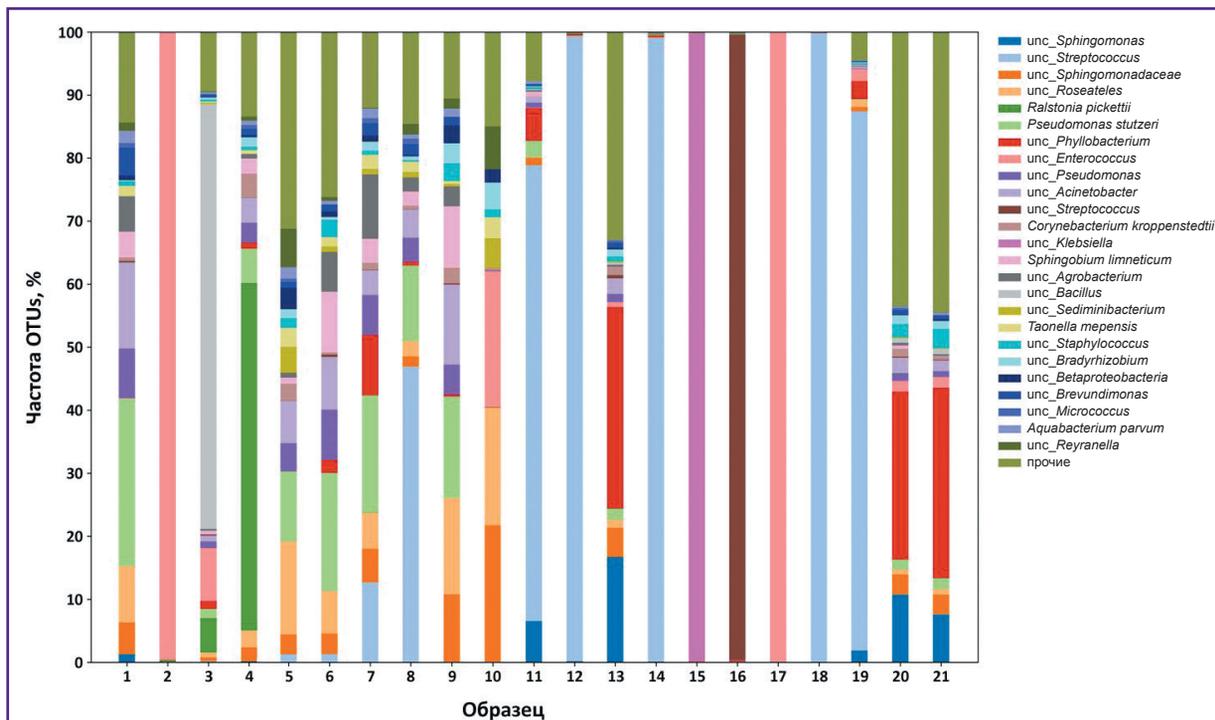
Таксономическое разнообразие бактерий, выявленных у пациентов с инфекционным эндокардитом (20 клапанов)

Тип клапана	Культуральные исследования	Результат окраски по Граму	16S рPHK секвенирование (процент в образце)
Аортальный	Культура стерильна	Отрицательный	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (27%) unc_ <i>Acinetobacter</i> (14%) unc_ <i>Roseateles</i> (9%) unc_ <i>Pseudomonas</i> (8%) unc_ <i>Sphingomonas</i> (6%)

Окончание таблицы

Тип клапана	Культуральные исследования	Результат окраски по Граму	16S рПНК секвенирование (процент в образце)
Аортальный	<i>Enterococcus faecalis</i>	Отрицательный	unc_Bacillus (67%) unc_Enterococcus (8,3%)
Митральный	<i>Enterococcus faecalis</i>	Отрицательный	unc_Enterococcus (100%)
Аортальный	Культура стерильна	Палочки/кокки	<i>Ralstonia pickettii</i> (55%) <i>Pseudomonas stutzeri</i> (5,5%)
Митральный	Культура стерильна	Отрицательный	unc_Roseateles (15%) <i>Pseudomonas stutzeri</i> (11%) unc_Acinetobacter (6,7%) unc_Reyranella (6,1%)
Митральный	Культура стерильна	Отрицательный	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (19%) <i>Sphingobium limneticum</i> (9,6%) unc_Acinetobacter (8,4%) unc_Pseudomonas (8,0%) unc_Roseateles (6,7%) unc_Agrobacterium (6,4%)
Аортальный	<i>Streptococcus gordonii</i>	Кокки	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (19%) unc_Streptococcus (13%) unc_Agrobacterium (10%) unc_Pseudomonas (6,3%) unc_Roseateles (5,8%) unc_Sphingomonas (5,5%)
Митральный	<i>Streptococcus gordonii</i>	Кокки	unc_Streptococcus (47%) <i>Pseudomonas stutzeri</i> (12%)
Трискупидальный	Культура стерильна	Отрицательный	<i>Pseudomonas stutzeri</i> (16%) unc_Roseateles (15%) unc_Sphingomonas (11%) unc_Acinetobacter (13%) <i>Sphingobium limneticum</i> (9,7%)
Аортальный	Культура стерильна	Кокки	unc_Streptococcus (72%) unc_Sphingomonas (6,5%) unc_Phyllobacterium (5,2%)
Митральный	Культура стерильна	Кокки	unc_Streptococcus (99%)
Митральный	Культура стерильна	Отрицательный	unc_Sphingomonas (17%) unc_Phyllobacterium (32%)
Аортальный	Культура стерильна	Кокки	unc_Streptococcus (99%)
Аортальный	Культура стерильна	Кокки	unc_Klebsiella (100%)
Митральный	Культура стерильна	Отрицательный	unc_Streptococcus (100%)
Аортальный	<i>Enterococcus faecalis</i>	Кокки	unc_Enterococcus (100%)
Аортальный	Культура стерильна	Кокки	unc_Streptococcus (100%)
Митральный	Культура стерильна	Кокки	unc_Streptococcus (86%)
Митральный	Культура стерильна	Палочки/кокки	unc_Sphingomonas (11%) unc_Phyllobacterium (26%)
Аортальный	Культура стерильна	Отрицательный	unc_Sphingomonas (7,5%) unc_Phyllobacterium (30%)

Примечание: unc — неклассифицированный.



Таксономическая структура бактериальных сообществ нативных клапанов сердца, пораженных инфекционным эндокардитом
 OTUs — оперативная таксономическая единица

Обсуждение

В основе ИЭ лежит колонизация клапанов сердца микроорганизмами. Несмотря на достижения в профилактике, диагностике и лечении этого заболевания, на сегодняшний день сохраняется высокий уровень летальности: внутригоспитальная летальность составляет от 6 до 50%, пятилетняя смертность — от 19 до 82% [20]. Эпидемиологические исследования показывают, что распространенность ИЭ составляет от 5,0 до 14,3 случаев на 100 000 тысяч взрослого населения [21]. Кроме того, отмечено изменение этиологической структуры ИЭ. Так, на сегодняшний день на долю основных возбудителей (*Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp.) приходится почти 80% случаев ИЭ. Примерно в 10% случаев этиологическим агентом являются энтерококки, в частности *Enterococcus faecalis*, причем процент этих бактерий выше у лиц старше 65 лет [22]. Грамотрицательные палочки, включая организмы группы НАСЕК (виды *Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* и *Kingella*), выявляются гораздо реже (на их долю приходится около 5% случаев ИЭ).

Корректная идентификация возбудителя является крайне важным аспектом диагностики ИЭ [4]. Рутинное определение этиологического агента ИЭ путем посева крови или резецированного участка ткани может давать ложноотрицательные результаты в диапазоне от 2,5 до 31,0% случаев,

что зачастую сопряжено с антибиотикотерапией до поступления в стационар [20]. Кроме того, ряд вызывающих ИЭ бактерий могут относиться к труднокультивируемым или некультивируемым группам [23]. В результате проведенного нами исследования продемонстрировано, что на долю выявленных с использованием микробиологических тестов возбудителей приходилось всего около 30% изученных случаев ИЭ, в то время как идентификация бактериальных агентов методом 16S рРНК метабаркодинга составила 100%. Так, 16S рРНК метабаркодинг позволил выявить бактерии родов *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Sphingomonas*, *Roseateles*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Bacillus* и *Klebsiella*. Не отмечено ни одного случая *Staphylococcus*, несмотря на то что микроорганизмы данного рода являются одними из наиболее распространенных возбудителей, поражающих ткани клапанных структур сердца.

Представители рода *Streptococcus* занимают второе место по значимости в патогенезе ИЭ после *Staphylococcus aureus*. Род *Streptococcus* представляет собой гетерогенную группу бактерий с 50 идентифицированными видами. Ряд исследований демонстрируют, что отдельные виды стрептококков, особенно из группы *Mitis*, являются основными возбудителями ИЭ [24, 25]. Показано, что *Streptococcus gordonii* и *Streptococcus mutans* — это наиболее часто встречающиеся виды стрептококков

(наблюдаются в 50% случаев), реже распространены *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* (1–2%) [25].

Род *Enterococcus* включает в себя грамположительные бактерии, занимающие лидирующие позиции среди возбудителей ИЭ. До 20% всех случаев ИЭ может быть обусловлено бактериями данного рода, преимущественно *Enterococcus faecalis* [26]. Терапия ИЭ, вызванного представителями рода *Enterococcus*, сопряжена с определенными трудностями, поскольку данный патоген способен образовывать биопленки и сохранять микроорганизмы не только на нативных клапанах сердца, но и на протезированных клапанных структурах [27, 28]. Стоит отметить, что, по сравнению с другими этиологиями, для ИЭ, вызванного *E. faecalis*, характерны рецидивы после протезирования клапанов сердца, которые могут возникать после отмены антибиотикотерапии [29, 30].

Кроме того, в нашем исследовании выявлено два случая бактериальной инвазии более редкими микроорганизмами, такими как *Ralstonia pickettii* и *Bacillus* spp. *R. pickettii*, относящаяся к роду *Ralstonia*, представляет собой аэробную грамотрицательную оксидазоположительную бациллу, которую в последнее время рассматривают как оппортунистический патоген у пациентов с ослабленным иммунитетом. *R. pickettii* способна выживать в широком диапазоне температур (от 15 до 42°C), а также образовывать биопленку, устойчивую к иммунному ответу хозяина и ряду антибиотиков [31]. Кроме того, на сегодняшний день нет стандартизированного протокола лечения инфекций, вызванных *R. pickettii*, из-за различий в чувствительности к антибиотикам. Пациенты с ослабленным иммунитетом, особенно индивидуумы с приобретенной (ВИЧ) или фармацевтической иммуносупрессией, находятся в группе риска заражения данным видом бактерий [32], что в целом описывает наш случай выявления *R. pickettii* у пациента с поражением аортального клапана и сопутствующим ВИЧ, а также гепатитом С.

В результате проведенного 16S рПНК метабаркодинга в одном случае нами также был идентифицирован возбудитель рода *Bacillus* в митральном клапане пациента, посев крови которого показал положительный результат на *E. faecalis*. Бактерии рода *Bacillus* — грамположительные факультативные анаэробы, встречающиеся в окружающей среде, в пище, а также в микрофлоре кишечника [33]. Кроме того, отмечено, что бактерии рода *Bacillus* способны вызывать ИЭ, поражая в большинстве случаев митральный клапан сердца, и ассоциированы с высокой летальностью у пациентов с протезированными клапанными структурами [34]. Показано, что эндокардит, вызванный бактериями рода *Bacillus*, чаще встречался у пациентов с внутривенным употреблением наркотиков, венозными катетерами, протезами клапанов сердца, злокачественными новообразованиями, а также иммуносупрессией [35].

Важно заметить, что в нашем исследовании в одном случае также выявлена грамотрицательная бактерия из рода *Klebsiella*. Наиболее распространенными видами из данного рода являются *Klebsiella pneumoniae* и *Klebsiella oxytoca*. *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella ozaenae* и *Klebsiella rhinoscleromatis* встречаются реже. Среди известных видов именно *K. pneumoniae* наиболее часто вызывает ИЭ, характеризующийся тяжелым течением заболевания, главным образом за счет того, что данный вид бактерии является устойчивым к некоторым видам антибиотиков [36].

Заключение

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что нативные клапаны сердца, удаленные у пациентов с ИЭ, характеризовались большим количеством условно-патогенных микроорганизмов при отрицательных результатах посева крови. Это свидетельствует о том, что остаточная бактериемия у пациентов, которым проводилась предоперационная антибактериальная терапия, направленная в основном против известных возбудителей ИЭ, может приводить к развитию протезного ИЭ в послеоперационном периоде с последующей повторной операцией, ухудшением качества жизни пациента и повышением риска летального исхода. Полученные результаты показывают значимость 16S рПНК метабаркодинга удаленных клапанов сердца и необходимость углубленного изучения таксономического разнообразия клапанов сердца, пораженных ИЭ, с использованием высокопроизводительных методов.

Финансирование. Исследование выполнено на средства гранта Российского научного фонда №23-75-10020 «Молекулярно-генетические основы патогенеза инфекционного эндокардита нативных клапанов сердца и их биопротезов», <https://rscf.ru/project/23-75-10020/>.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Литература/References

1. Li M., Kim J.B., Sastry V.K.S., Chen M. Infective endocarditis. *Lancet* 2024; 404(10450): 377–392, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01098-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01098-5).
2. Martínez-Sellés M., Muñoz P. Epidemiology, diagnosis, treatment, and prognosis of infective endocarditis. *J Clin Med* 2023; 12(17): 5705, <https://doi.org/10.3390/jcm12175705>.
3. Стасев А.Н., Рутковская Н.В., Кокорин С.Г., Левадин Ю.В. Сальмонеллезный эндокардит митрального клапана: клиническое наблюдение. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний* 2017; 2: 123–126, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2017-2-123-126>.

Stasev A.N., Rutkovskaya N.V., Kokorin S.G., Levadin Yu.V. Salmonella endocarditis of mitral valve: clinical observation. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases* 2017; 2: 123–126, <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2017-2-123-126>.

4. Oberbach A., Schlichting N., Feder S., Lehmann S., Kullnick Y., Buschmann T., Blumert C., Horn F., Neuhaus J., Neujahr R., Bagaev E., Hagl C., Pichlmaier M., Rodloff A.C., Gräber S., Kirsch K., Sandri M., Kumbhari V., Behzadi A., Behzadi A., Correia J.C., Mohr F.W., Friedrich M. New insights into valve-related intramural and intracellular bacterial diversity in infective endocarditis. *PLoS One* 2017; 12(4): e0175569, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175569>.

5. Демин А.А., Кобалава Ж.Д., Скопин И.И., Тюрин В.П., Бойцов С.А., Голухова Е.З., Гордеев М.Л., Гудымович В.Г., Демченко Е.А., Дробышева В.П., Домонова Э.А., Драпкина О.М., Загородникова К.А., Иртыга О.Б., Кыхцян П.В., Козлов Р.С., Котова Е.О., Медведев А.П., Муратов Р.М., Николаевский Е.Н., Писарюк А.С., Пономарева Е.Ю., Попов Д.А., Рачина С.А., Ревшвили А.Ш., Резник И.И., Рыжкова Д.В., Сафарова А.Ф., Тазина С.Я., Чипигина Н.С., Шипулина О.Ю., Шляхто Е.В., Шнейдер Ю.А., Шостак Н.А. Инфекционный эндокардит и инфекция внутрисердечных устройств. Клинические рекомендации 2021. *Российский кардиологический журнал* 2022; 27(10): 5233, <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-5233>.

Demin A.A., Kobalava Zh.D., Skopin I.I., Tyurin P.V., Boytsov S.A., Golukhova E.Z., Gordeev M.L., Gudymovich V.D., Demchenko E.A., Drobysheva V.P., Domonova E.A., Drapkina O.M., Zagorodnikova K.A., Irtyuga O.B., Kakhktsyan P.S., Kozlov R.S., Kotova E.O., Medvedev A.P., Muratov R.M., Nikolaevsky E.N., Pisaryuk A.S., Ponomareva E.Yu., Popov D.A., Rakhina S.A., Revishvili A.G., Reznik I.I., Ryzhkova D.S., Safarova A.F., Tazina S.Ya., Chipigina N.S., Shipulina O.Yu., Shlyakhto E.S., Schneider Yu.A., Shostak N.A. Infectious endocarditis and infection of intracardiac devices in adults. Clinical guidelines 2021. *Russian Journal of Cardiology* 2022; 27(10): 5233, <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2022-5233>.

6. Котова Е.О., Домонова Э.А., Кобалава Ж.Д., Моисеева А.Ю., Писарюк А.С., Сильвестрова О.Ю., Караулова Ю.Л., Акимкин В.Г. Клинико-диагностическая ценность включения ПЦР-исследования крови в традиционный алгоритм идентификации возбудителей инфекционного эндокардита: когортное исследование 124 пациентов. *Терапевтический архив* 2023; 95(1): 23–31, <https://doi.org/10.26442/00403660.2023.01.202042>.

Kotova E.O., Domonova E.A., Kobalava Z.D., Moiseeva A.Y., Pisaryuk A.S., Silveystrova O.Y., Karaulova J.L., Akimkin V.G. Clinical and diagnostic value of including PCR blood test in the traditional algorithm for identifying causative agents of infective endocarditis: a cohort study of 124 patients. *Terapevticheskii arkhiv* 2023; 95(1): 23–31, <https://doi.org/10.26442/00403660.2023.01.202042>.

7. Zeng X., Wu J., Li X., Xiong W., Tang L., Li X., Zhuang J., Yu R., Chen J., Jian X., Lei L. Application

of metagenomic next-generation sequencing in the etiological diagnosis of infective endocarditis during the perioperative period of cardiac surgery: a prospective cohort study. *Front Cardiovasc Med* 2022; 9: 811492, <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.811492>.

8. Haddad S.F., DeSimone D.C., Chesdachai S., Gerber D.J., Baddour L.M. Utility of metagenomic next-generation sequencing in infective endocarditis: a systematic review. *Antibiotics (Basel)* 2022; 11(12): 1798, <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121798>.

9. Burban A., Słupik D., Reda A., Szczerba E., Grabowski M., Kołodzińska A. Novel diagnostic methods for infective endocarditis. *Int J Mol Sci* 2024; 25(2): 1245, <https://doi.org/10.3390/ijms25021245>.

10. Martinez-Porchas M., Villalpando-Canchola E., Ortiz Suarez L.E., Vargas-Albores F. How conserved are the conserved 16S-rRNA regions? *PeerJ* 2017; 5: e3036, <https://doi.org/10.7717/peerj.3036>.

11. Anton-Vazquez V., Dworakowski R., Cannata A., Amin-Youssef G., Gunning M., Papachristidis A., MacCarthy P., Baghai M., Deshpande R., Khan H., Byrne J., Fife A. 16S rDNA PCR for the aetiological diagnosis of culture-negative infective endocarditis. *Infection*. 2022;50(1):243–249, <https://doi.org/10.1007/s15010-021-2001690-x>.

12. Fadrosch D.W., Ma B., Gajer P., Sengamalay N., Ott S., Brotman R.M., Ravel J. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. *Microbiome* 2014; 2(1): 6, <https://doi.org/10.1186/2049-2618-2-6>.

13. Shen W., Le S., Li Y., Hu F. SeqKit: a cross-platform and ultrafast toolkit for FASTA/Q file manipulation. *PLoS One* 2016; 11(10): e0163962, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163962>.

14. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.

15. Edgar R.C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nat Methods* 2013; 10(10): 996–998, <https://doi.org/10.1038/nmeth.2604>.

16. Edgar R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 2010; 26(19): 2460–2461, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>.

17. Edgar R.C. UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing. *bioRxiv* 2016, <https://doi.org/10.1101/081257>.

18. Edgar R.C. SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences. *bioRxiv* 2016, <https://doi.org/10.1101/074161>.

19. Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73(16): 5261–5267, <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>.

20. Kouijzer J.J.P., Noordermeer D.J., van Leeuwen W.J., Verkaik N.J., Lattwein K.R. Native valve, prosthetic valve, and cardiac device-related infective endocarditis: a review and update on current

- innovative diagnostic and therapeutic strategies. *Front Cell Dev Biol* 2022; 10: 995508, <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.995508>.
21. Thornhill M.H., Dayer M.J., Nicholl J., Prendergast B.D., Lockhart P.B., Baddour L.M. An alarming rise in incidence of infective endocarditis in England since 2009: why? *Lancet* 2020; 395(10233): 1325–1327, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30530-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30530-4).
22. Кобалава Ж.Д., Котова Е.О. Глобальные и национальные тренды эволюции инфекционного эндокардита. *Кардиология* 2023; 63(1): 3–11, <https://doi.org/10.18087/cardio.2023.1.n2307>.
- Kobalava Z.D., Kotova E.O. Global and national trends in the evolution of infective endocarditis. *Kardiologija* 2023; 63(1): 3–11, <https://doi.org/10.18087/cardio.2023.1.n2307>.
23. Reisinger M., Kachel M., George I. Emerging and re-emerging pathogens in valvular infective endocarditis: a review. *Pathogens* 2024; 13(7): 543, <https://doi.org/10.3390/pathogens13070543>.
24. Cai S., Yang Y., Pan J., Miao Q., Jin W., Ma Y., Zhou C., Gao X., Wang C., Hu B. The clinical value of valve metagenomic next-generation sequencing when applied to the etiological diagnosis of infective endocarditis. *Ann Transl Med* 2021; 9(19): 1490, <https://doi.org/10.21037/atm-21-2488>.
25. Kim S.L., Gordon S.M., Shrestha N.K. Distribution of streptococcal groups causing infective endocarditis: a descriptive study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018; 91(3): 269–272, <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.02.015>.
26. Chamat-Hedemand S., Dahl A., Østergaard L., Arpi M., Fosbøl E., Boel J., Oestergaard L.B., Lauridsen T.K., Gislason G., Torp-Pedersen C., Bruun N.E. Prevalence of infective endocarditis in streptococcal bloodstream infections is dependent on streptococcal species. *Circulation* 2020; 142(8): 720–730, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046723>.
27. Habib G., Lancellotti P., Erba P.A., Sadeghpour A., Meshaal M., Sambola A., Furnaz S., Citro R., Ternacle J, Donal E., Cosyns B., Popescu B., Lung B., Prendergast B., Laroche C., Tornos P., Pazdernik M., Maggioni A., Gale C.P.; EURO-ENDO Investigators. The ESC-EORP EURO-ENDO (European Infective Endocarditis) registry. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes* 2019; 5(3): 202–207, <https://doi.org/10.1093/ehjqcco/qcz018>. Erratum in: *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes* 2020; 6(1): 91, <https://doi.org/10.1093/ehjqcco/qcz060>.
28. Conwell M., Dooley J.S.G., Naughton P.J. Enterococcal biofilm — a nidus for antibiotic resistance transfer? *J Appl Microbiol* 2022; 132(5): 3444–3460, <https://doi.org/10.1111/jam.15441>.
29. Lecomte R., Laine J.B., Issa N., Revest M., Gaborit B., Le Turnier P., Deschanvres C., Benezit F., Asseray N., Le Tourneau T., Pattier S., Al Habash O., Raffi F., Boutoille D., Camou F. Long-term outcome of patients with nonoperated prosthetic valve infective endocarditis: is relapse the main issue? *Clin Infect Dis* 2020; 71(5): 1316–1319, <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1177>.
30. Calderón-Parra J., Kestler M., Ramos-Martínez A., Bouza E., Valerio M., de Alarcón A., Luque R., Goenaga M.Á., Echeverría T., Fariñas M.C., Pericàs J.M., Ojeda-Burgos G., Fernández-Cruz A., Plata A., Vinuesa D., Muñoz P.; on behalf of the GAMES investigators. Clinical factors associated with reinfection versus relapse in infective endocarditis: prospective cohort study. *J Clin Med* 2021; 10(4): 748, <https://doi.org/10.3390/jcm10040748>.
31. Danneels P., Hamel J.F., Picard L., Rezig S., Martinet P., Lorleac'h A., Talarmin J.P., Buzelé R., Guimard T., Le Moal G., Brochard-Libois J., Beaudron A., Letheulle J., Codde C., Chenouard R., Boutoille D., Lemaignan A., Bernard L., Cattoir V., Dubée V; EFEMER study group. Impact of *Enterococcus faecalis* endocarditis treatment on risk of relapse. *Clin Infect Dis* 2023; 76(2): 281–290, <https://doi.org/10.1093/cid/ciac777>.
32. Basso M., Venditti C., Raponi G., Navazio A.S., Alessandri F., Giombini E., Nisii C., Di Caro A., Venditti M. A case of persistent bacteraemia by *Ralstonia mannitolilytica* and *Ralstonia pickettii* in an intensive care unit. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 2391–2395, <https://doi.org/10.2147/IDR.S206492>.
33. Orme J., Rivera-Bonilla T., Loli A., Blattman N.N. Native valve endocarditis due to *Ralstonia pickettii*: a case report and literature review. *Case Rep Infect Dis* 2015; 2015: 324675, <https://doi.org/10.1155/2015/324675>.
34. Wright W.F. Central venous access device-related bacillus cereus endocarditis: a case report and review of the literature. *Clin Med Res* 2016; 14(2): 109–115, <https://doi.org/10.3121/cmr.2016.1312>.
35. Gopinathan A., Kumar A., Sen A.C., Sudha S., Varma P., Gs S., Eapen M., Dinesh K.R. A case series and review of bacillus cereus endocarditis from India. *Open Microbiol J* 2018; 12: 28–33, <https://doi.org/10.2174/1874285801812010028>.
36. Ioannou P., Miliara E., Baliou S., Kofteridis D.P. Infective endocarditis by *Klebsiella* species: a systematic review. *J Chemother* 2021; 33(6): 365–374, <https://doi.org/10.1080/1120009X.2021.1888025>.