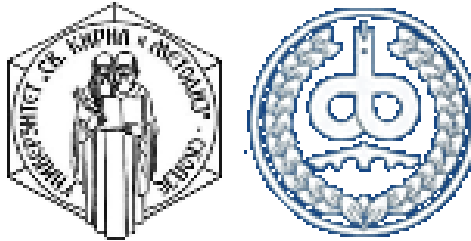


**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“**

**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ - СКОПЈЕ**

**Универзитетска клиника за гастроентерохепатологија**



**ВРЕДНОСТА НА КАЛПРОТЕКТИН ВО АСЦИТ КАКО  
ДИЈАГНОСТИЧКИ И ПРОГНОСТИЧКИ МАРКЕР ЗА  
СПОНТАН БАКТЕРИСКИ ПЕРИТОНИТИС  
КАЈ ПАЦИЕНТИТЕ СО ЦРНОДРОБНА ЦИРОЗА**

**- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -**

**Кандидат: Фана Личоска-Јосифовиќ**

**Ментор: Професор д-р Мери Трајковска**

**Скопје, 2020**

## *СКРАТЕНИЦИ*

СБП – спонтан бактериски перитонитис

vs – версус

ПМНК – полиморфонуклеарни клетки

ЦЦ – црнодробна цироза

АЛТ – аланин аминотрансфераза

АСТ – аспартат аминотрансфераза

АП – алкална фосфатаза

ИНР – англ. International Normalisation Ratio (меѓународен стандард за ПВ)

ИЛ-6 – интерлеукин-6

ХЕ – хепатална енцефалопатија

Ер – еритроцити

Ле – леукоцити

MELD-скор – англ. Model for End Stage Liver Disease

СТР II скор – Child Turcotte Rought II скор

ПВ – протромбинско време

ГГТ – гама-глутамил трансфераза

ТНФ- $\alpha$  – тумор-некротизиращки фактор

ХБВ – вирусен хепатитис Б

ХЦВ – вирусен хепатитис Ц

ВП – вкупни протеини

ВБ- вкупен билирубин

СААГ – серум-асцит албумин градиент

ЦРП – Ц-реактивен протеин

НКНА – негативна култура на неутрофилен асцит

## СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	1
1.1. Дефиниција	1
1.2. Епидемиологија	
1.3. Етиологија	2
1.4. Патогенеза	2
1.5. Клиничка слика	6
1.6. Дијагноза	6
1.6.1. Маркери за бактериска транслокација	7
1.6.2. Калпротектин	7
1.6.2.1. Дистрибуција во клетките и ткивата	8
1.6.2.2. Биолошка функција	9
1.6.2.3. Калпротектин како дијагностички маркер за СБП	9
1.7. Терапија	10
1.8. Прогностички скорови кај пациентите со црнодробна цироза	12
1.8.1. Child-Turcotte-Pugh скор	12
1.8.2. MELD-скор (Model for End Stage Liver Disease)	15
2. МОТИВ	17
3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ	18
3.1. Примарна цел	18
3.2. Секундарни цели	18
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	19
4.1. Материјал	19
4.1.1. Поделба на пациентите по групи	19
4.1.2. Критериуми за вклучување во студијата	19
4.1.2.1. Инклузиони критериуми	19
4.1.2.2. Ексклузиони критериуми	19
4.2. Методи и имплементирање на истражувањето	20
4.2.1. Клинички преглед	20
4.2.2. Историја на болест	
4.2.3. Витални параметри	20

4.2.4. Биохемиски анализи и биохемиска методологија во крв	22
4.2.5. Биохемиски анализи и биохемиска методологија во асцит	22
4.2.6. Број на ПМНК	23
4.2.7. Микробиолошка анализа на асцитот	23
4.2.8. Парацентеза	23
4.2.9. Серум-асцит албумин градиент	23
4.2.10. Ултрасонографски преглед на абдомен	23
4.2.11. Квантификација на асцит	23
4.2.12. Прогностички скорови кај пациенти со црнодробна цироза	23
4.2.13. Квантификација на степенот на хепатална енцефалопатија	24
4.2.14. Горнодигестивна ендоскопија	24
4.3. Критериуми за спонтан бактериски перитонитис	24
4.4. Имплементирање на истражувањето	25
4.5. Информирана согласност од сите субјекти вклучени во студијата	26
5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА	27
6. РЕЗУЛТАТИ	28
7. ДИСКУСИЈА	73
8. ЗАКЛУЧОЦИ	93
9. ЛИТЕРАТУРА	96

## **АПСТРАКТ**

**Вовед.** Спонтаниот бактериски перитонитис (СБП) кај пациентите со црнодробна цироза е новонастаната, спонтана бактериска инфекција на стерилна асцитна течност, во отсуство на интраабдоминални извори на инфекција или малигнитет. Најсензитивен показател за поставување на дијагнозата е бројот на полиморфонуклеарни клетки (ПМНК)  $\geq 250$  во 1 мл асцитна течност и/или кога во микробиолошката култура биде изолиран еден бактериски вид.

**Цели.** Да се утврди вредноста на нивото на калпротектинот во асцитната течност како дијагностички и прогностички маркер за СБП кај пациентите со црнодробна цироза, да се спореди вредноста на калпротектинот во асцитот кај пациентите со СБП пред почетокот на антибиотската терапија и 7-миот ден од започнувањето на терапијата и да се утврди дали има корелација на вредноста на калпротектинот со бројот на ПМНК во асцитот пред и по антибиотската терапија.

**Материјали и методи.** Во оваа проспективно-аналитичко-опсервациска студија беа вклучени 70 пациенти со црнодробна цироза и асцит, поделени во две групи, СБП и не-СБП. Квантитативното мерење на калпротектин во асцит се вршеше со тестот Quantum Blue Calprotectin Ascites (LF-ASC25). Тестот е дизајниран за селективно мерење на антигенот на калпротектинот (MRP8/14) со директен сендвич имуноесеј. Примероците од асцитот се разредуваа со Chase Buffer во однос 1:5 и по 12 минути инкубација на собна температура, интензитетот на сигналот на линијата за тестирање и контролната линија се мереа квантитативно со BÜHLMANN Quantum Blue®Reader. Собраните податоци се обработија со помош на статистичкиот програм SPSS 23 за Windows.

**Резултати.** Во нашата студија просечната вредност на калпротектин во асцит кај ИГ изнесува  $1,5 \pm 0,40$   $\mu\text{g/mL}$ , а во КГ просечната вредност е пониска и изнесува  $0,4 \pm 0,30$   $\mu\text{g/mL}$ . Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t$ -тест=12,70849;  $p=0,000000$ ). Просечната вредност на калпротектин во асцит 7-миот ден од почетокот со антибиотскиот третман значително се намалува и изнесува  $1,0 \pm 0,6$ , а разликата помеѓу просечните вредности на калпротектин во асцит пред и по антибиотскиот третман е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Wilcoxon Matched Pairs-тест,  $T=5,00000$ ;  $Z=4,594930$ ;  $p=0,000004$ ). Во текот на анализата се регистрираше позитивна јака статистички сигнификантна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот и бројот на ПМНК пред и по антибиотската терапија (Pearson линеарна корелација,  $r=0,7740$ ;  $p=0,000$  в.с  $r=0,8894$ ;  $p=0,000$  ).

**Заклучок.** Просечната вредност на нивото на калпротектин во асцит  $1,50 \mu\text{g} / \text{mL}$  со сигурност може да предвиди број на ПМНК  $\geq 250 / \mu\text{L}$ , и може да се користи како алтернатива на другите конвенционални методи за дијагностицирање на СБП, со сензитивност од 94.3 % и специфичноста е 62.5 %. Одредувањето на вредноста на калпротектинот во асцитот 7-миот ден од почетокот со антибиотскиот третман сигнификантно позитивно корелира со бројот на ПМНК по терапија и има прогностичката вредност во однос на ефикасноста на антибиотскиот третман кај пациентите со СБП. Се регистрира позитивна јака статистички сигнификантна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот во асцит и бројот на ПМНК во асцит пред и по антибиотската терапијата. Бројот на ПМНК во асцит е значаен предвидлив фактор што влијае на вредностите на калпротектин кај пациенти со СБП. Доколку бројот на ПМНК се зголемат за една единица мерка, вредноста на концентрацијата на калпротектинот просечно се зголемува за 0,687187.

**Клучни зборови:** калпротектин, СБП, ПМНК, асцит, црнодробна цироза

## ***ABSTRACT***

**Introduction.** Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in patients with liver cirrhosis is a newly developed, spontaneous bacterial infection of sterile ascites fluid, in the absence of intraabdominal sources of infection or malignancy. The most sensitive indicator of diagnosis is when the polymorphonuclear cell count (PMNs) is  $\geq 250$  in 1 ml ascites fluid and/or when a bacterial strain is isolated in microbiological culture.

**Objectives.** The objectives of our study were to determine the value of calprotectin level in ascites fluid as a diagnostic and prognostic marker for SBP in patients with cirrhosis of the liver, to compare the value of calprotectin in ascites in patients with SBP before the start of antibiotic therapy and on the 7th day of therapy and to determine whether there is a correlation between the value of calprotectin and the count of PMNs in ascites before and after antibiotic therapy.

**Materials and methods.** This prospective analytical observational pilot study included 70 patients with liver cirrhosis and ascites, divided into two groups, SBP and non-SBP. The quantitative measurement of calprotectin in ascites was performed with the Quantum Blue Calprotectin Ascites (LF-ASC25) test. The test is designed to selectively measure calprotectin antigen (MRP8/14) with direct sandwich immunoassay. The ascites samples were diluted with Chase Buffer 1:5 and after 12 minutes incubation at room temperature, the test line signal intensity and the control line were quantitated with BÜHLMANN Quantum Blue®Reader. The collected data were processed using the SPSS 23 statistical software for Windows.

**Results.** In our study the average value of calprotectin in EG was  $1.5 \pm 0.40$   $\mu\text{g/mL}$ , while in the CG was  $0.4 \pm 0.30$   $\mu\text{g/mL}$ . The difference between the mean values was statistically significant for  $p < 0.05$  (t-test = 12.70849;  $p = 0.000000$ ). The mean value of calprotectin in ascites on the 7th day from the start of antibiotic treatment decreases significantly to  $1.0 \pm 0.6$ , and the difference between the mean values of calprotectin in ascites before and after antibiotic treatment was statistically significant for  $p < 0.05$  (Wilcoxon Matched Pairs test,  $T = 5.00000$ ;  $Z = 4.594930$ ;  $p = 0.000004$ ). During the analysis, we registered a positive strong statistically significant correlation between the value of calprotectin and the count of PMNs before and after antibiotic therapy (Pearson linear correlation,  $r = 0.7740$ ;  $p = 0.000$  v.s  $r = 0.8894$ ,  $p = 0.000$ ).

**Conclusion.** The the average value of calprotectin in ascites of  $1.50$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  can reliably predict a the count of PMNs  $\geq 250 / \mu\text{L}$ , and can be used as an alternative to other conventional methods for diagnosing SBP, with a sensitivity of 94.3% and the specificity is 62.5%. The determination of the value of calprotectin in ascites on the 7th day from the start of antibiotic treatment was significantly positively correlated with the count of after therapy and had prognostic significance in terms of the effectiveness of antibiotic treatment in patients with SBP. There was a strong positive statistically significant correlation between the value of calprotectin in ascites and the count of PMNs in ascites before and after antibiotic

therapy. The count of PMNs in ascites is a significant predictor of calprotectin levels in patients with SBP. If the count of PMNs increase by one unit of measure, the value of calprotectin concentration increases by 0.687187 on average.

**Keywords:** calprotectin, spontaneous bacterial peritonitis (SBP), PMNs, ascites, liver cirrhosis



# ***1. ВОВЕД***

## **1.1. ДЕФИНИЦИЈА**

Спонтаниот бактериски перитонитис (СБП) кај пациентите со црнодробна цироза (ЦЦ) е новонастаната, спонтана бактериска инфекција на стерилна асцитна течност, во отсуство на интраабдоминални извори на инфекција или малигнитет.

Најсензитивен показател за поставување на дијагнозата е бројот на полиморфонуклеарни клетки (ПМНК)  $\geq 250$  во 1 mL асцитна течност и/или доколку во микробиолошката култура биде изолиран еден бактериски вид (1-6).

Првото спомнување на СБП во литературата датира од 1964 година со висока стапка на морталитет од 90% (7). Денес со навремено поставување на дијагнозата и соодветен антибиотски третман, морталитетот е сведен на 20-30%.

## **1.2. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА**

Инциденцијата на СБП се движи од 3,5% кај пациентите со декомпензирана цироза, 7% до 30% кај хоспитализираните пациенти и 1,5% до 3,5% кај амбулантските пациенти (8, 9, 10).

Неодамна објавената мултицентрична интерконтинентална студија на Piano и соработниците, пријави преваленција на СБП од 27% на 1.302 пациенти со црнодробна цироза (11).

Годишната стапка на рецидиви е 70%, со едногодишно преживување по првата епизода од 30% до 40% (6, 9).

Прогностичките фактори кои влијаат на инциденцијата на СБП се: возраста, степенот на црнодробната дисфункција (пресметана според Child-Pugh или MELD скорот), намалената активност на С3-компонента на комплементот  $< 20$  mg/dL, ниската концентрација на протеини во асцитот  $< 10$  g/L, дисфункција на ПМНК, покаченото ниво на билирубинот во серум  $> 60$   $\mu$ mol/L, тромбоцити  $< 98.000$ , рефракторниот асцит, висок ИНР, лошиот нутритивен статус, крвање од варикозитети на хранопроводот и/или третман со балон тампонада, портосистемски шантови, како и употребата на инхибитори на протонската пумпа (12-28).

Прогностичките фактори кои влијаат на морбидитетот се: бубрежното оштетување, хипонатриемија, нозокомијалните инфекции, тешка сепса, хемодинамска нестабилност, MELD-скор  $\geq 22$  и хепатална енцефалопатија III/IV степен. (29-32).

### 1.3. ЕТИОЛОГИЈА

Кај 50% од пациентите најчесто присутни патогени бактерии се *Escherichia coli* и *Klebsiella species*. Дваесет и пет проценти од случаите се предизвикани од грам-позитивните микроорганизми, најчесто *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, и *Staphylococcus spp*. (9, 33-38) ( табела бр. 1.3.1).

Бактериската култура е негативна кај 60% од пациентите со СБП ( 1, 10, 38-40)

Табела 1.3.1. Преваленција на изолираните бактерии од асцит кај пациенти со СБП

Микроорганизми	Преваленција (%)
Грам-негативни бактерии	48–59
<i>Escherichia coli</i>	25–33
<i>Klebsiella spp.</i>	8–13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1–10
Other gram-negative bacilli	3–6
Грам-позитивни бактерии	48–62
<i>Enterococcus spp.</i>	9–24
<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	27
<i>Streptococcus viridans</i>	10–15
<i>Staphylococcus spp.</i>	13–19
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	5–13
Мултирезистентни бактерии	27–34

Забелешка: Податоци од референците 35 и 36

## 1.4. ПАТОГЕНЕЗА

Главен фактор во патогенезата на СБП е бактериската транслокација (БТ) на ентеричните бактерии или нивните фрагменти (бактериската десоксирибонуклеинска киселина или ендотоксините) од луменот на црево во мезентеричните лимфни јазли (МЛЈ), лимфната циркулација, системската циркулација и/или екстраинтестиналните органи во перитонеалната шуплина (41, 42).

Постојат неколку теории кои ја објаснуваат патогенезата на БТ: тенкоцревниот прекумерен бактерски раст, структурни и функционални промени на цревно-мукозната бариера и изменетиот имунолошки одговор на домаќинот (43-51).

Најчесто прифатена теорија која ја објаснува БТ е тенкоцревниот прекумерен бактерски раст. Етиологијата е мултифакториелна и може да биде резултат на намалениот моталитет на тенкото црево, дефект во гастричната секреција и/или дисрегулацијата на локалниот и системскиот имунитет (41, 52).

Општо прифатен критериум за дијагноза на тенкоцревниот прекумерен бактерски раст е присуство  $> 10^5$  колиформни бактерии/ mL во аспират од проксималниот јејунум.

Неколку клинички студии покажаа дека преваленцијата на тенкоцревниот прекумерен бактерски раст кај пациентите со црнодробна цироза е значително повисока во споредба со здравите контроли (53-57).

Според податоците од литературата, и други фактори може да го поттикнат тенкоцревниот прекумерен бактерски раст, спомнати се: намалена концентрација на жолчни соли во јејунум како последица на намалено лачење и зголемена деконјугација со ентеричните бактерии, тераписка супресија на желудечната киселина и хипохлорхидријата, како и намалениот моталитет на тенкото црево (58-60).

Причините за намалениот моталитет на тенкото црево кај пациентите со црнодробна цироза не се целосно познати, но се претпоставува дека се вклучени неколку механизми како што се симпатичката стимулација, зголемената синтеза на азотниот оксид, оштетувања на цревните ресички и оксидативниот стрес (61-67). Нивната поврзаност се гледа по поволниот терапевтски ефект со орални антибиотици,  $\beta$ -адренергични блокатори, прокинетици и антиоксиданси. (68-70).

Теоријата за структурните и / или функционалните промени на цревната мукозна бариера како причина за појавата на БТ се базира на експериментални и мал број клинички студии, докажа асоцираност помеѓу едемот и инфламацијата на субмукозата,

зголемената пермеабилност на интестиналниот сид (трансмурална БТ) и проширените меѓуклеточни простори, со васкуларната стаза предизвикана од порталната хипертензија (42, 71-75).

Исто така е докажано дека некои изолирани соеви на бактеријата *Escherichia coli*, со висока вирулентност може лесно да бидат транслоцирани од цревниот лумен во циркулацијата, особено кај пациенти кои биле изложени на катетеризација или ендоскопски процедури, како и кај пациенти со гастроинтестинални крвавења (76).

Последната теорија која ја објаснува патогенезата на БТ, ја зема предвид инволвираноста на изменетиот имунолошки одговор. Неколку студии покажаа дека пациентите со напредната цирроза имаат намален клеточен и хуморален имунолошки одговор, намалена активност на ретикулоендотелијалниот систем, намален фагоцитен капацитет на Kupffer-овите клетки, квалитативни абнормалности на неутрофилните клетки (намален капацитет за фагоцитоза), ниско ниво на комплемент во серум и намалена функција на макрофагите. Сите овие промени имаат за последица транслокација на нормално присутните бактерии од црево во порталната циркулација (44, 77-79).

Една можеби најинтересна теорија за патогенезата на БТ поврзана со имунолошкиот систем, зборува за инволвираноста на бактериските фрагменти (бактериската дезоксирибонуклеинска киселина или ендотоксините) во стимулација на имунолошкиот систем, а во отсуство на докажани бактериски инфекции (негативна бактериска култура и негативен неутрофилен асцит). Меѓутоа нивното докажување наиде на проблем, пред сè поради недостатокот на неинвазивни и чувствителни методи за нивното откривање (80-85).

Концентрацијата на протеини во асцитот е индиректен показател за потенцијалот на одбранбените фактори (комплементот, имуноглобулините и фибронектинот). Ниската концентрација на протеини во асцитот под 10 g/L го зголемува ризикот за настанување на СБП за 7 пати, во споредба со пациентите кај кои концентрацијата на протеини во асцит е поголема од 10 g/L (86-88).

Развојот на СБП најмногу зависи од способноста за опсонизација на перитонеалните макрофаги. Ако таа способност е добра, перитонеалните макрофаги ги уништуваат бактериите, без да се активираат неутрофилите. Меѓутоа, ако макрофагите не успеат да ги отстранат бактериите од асцитната течност, тогаш доаѓа до активација на неутрофилите. Во услови на намалена концентрација на протеини во асцитот, бактериите не може да бидат отстранети со неутрофилните клетки (нецелосна

бактериска опсонизација), додека во случај на адекватна опсонизација, инфектот во асцитната течност може да биде спонтано елиминиран со помош на масовната хемотакса и мобилизација на неутрофилните клетки. На тој начин се добива микробиолошка култура на негативен неутрофилен асцит (спонтано чистење) (42, 44, 46, 47).



Шема бр. 1.3.1. Шематски приказ на патогенезата на СБП. СБП – спонтан бактериски перитонитис и НКНА – негативна култура на неутрофилен асцит

## 1.5. КЛИНИЧКА СЛИКА

Во клиничката слика доминираат:

- локални симптоми и / или знаци на перитонитис: абдоминална болка, повраќање, дијареја, илеус; и
- системски заци на инфламација: хипер или хипотермија, треска, намалување или зголемување на бројот на леукоцити, тахикардија и/или тахипнеа, влошување на црнодробната функција, хепатална енцефалопатија, шок, ренална инсуфициенција и гастроинтестинални крвавења (1, 6, 10, 89-100).

Според литературата, 3,3-32% од пациентите со СБП се асимптоматски (12, 101, 238, 239), додека појавата на паралитичен илеус, хипотензија и хипотермија се лоши прогностички знаци (102-104).

## **1.6. ДИЈАГНОЗА**

Во најновите клинички препораки за третман на пациентите со црnodробна цироза, сите пациенти со ЦЦ и асцит при прием во болница треба да се подложат на дијагностичка парацентеза и биохемиско/микробиолошко испитување на асцитот, за да се исклучи/потврди СБП. Дијагностичка парацентеза треба да се изведе и кај пациенти со гастроинтестинално крвавење, шок, треска или други знаци на системско воспаление, како и кај пациенти со влошена функција на црниот дроб и бубрезите (хепаторенален синдром), како и кај хепаталната енцефалопатија (1, 6).

Златен стандард за поставување на дијагноза на СБП е бројот на полиморфонуклеарни клетки (ПМНК) поголем од  $\geq 250$  / во 1 mL асцитна течност (автоматско броење на ПМНК).

Доколку бројот на ПМНК во асцитот е  $< 250$  / во 1 mL кај симптоматски пациенти, потребно е да се направи микробиолошка анализа на асцитот. Наод на една бактериска култура во асцитната течност е исто така дијагностички критериум за СБП (105-115).

### **1.6.1. Маркери за бактериска транслокација**

Иако одредувањето на бројот на ПМН-клетки во асцитот останува златен стандард за поставувањето на дијагнозата на СБП, последниве години повеќе истражувања се насочени кон пронаоѓање на нови дијагностички и прогностички маркери.

Како потенцијални маркери присутни во асцитната течност се издвојуваат: проинфламаторните цитокини (тумор-некротизиращки фактор - TNF $\alpha$  и интерлеукинон 6 IL-6), лактоферинот, прокалцитонинот, калпротектинот, Ц-реактивниот протеин (CRP) и прокоагулантните фактори (ткивен тромбопластин, ендотоксин и колаген) (116-119). Дел од нив се комерцијално недостапни, дел со ниска осетливост, или висок ризик од лажно негативни резултати, особено кај пациентите со низок број на неутрофили. Досега

не е докажана вредноста на ниту еден маркер сам за себе како оптимален за дијагноза на БТ, што укажува на потребата од дополнителни студии (10, 120).

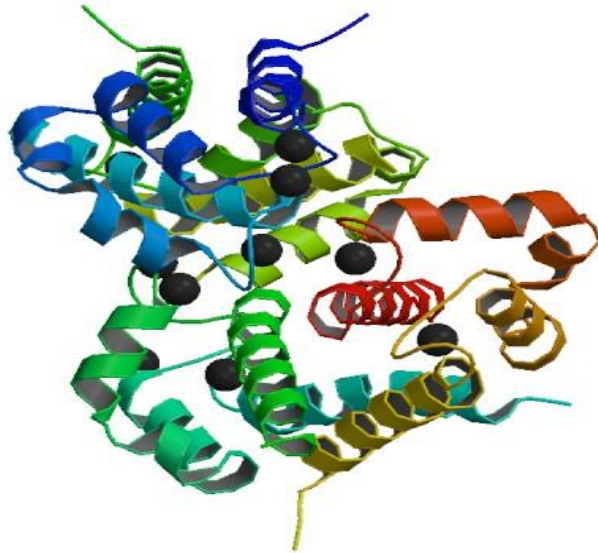
### 1.6.2. Калпротектин

Калпротектинот е хетеротетрамерен протеин со молекуларна тежина од 36 kDa , составен од два тешки и еден лесен сицир, нековалентно поврзани со калциум и цинк и претставува повеќе од 60% од сите цитосолубилни протеини што се наоѓаат во клеточната цитоплазма на неутрофилните гранулоцити (121, 122) ( слика бр. 1.5.2.1).

Steinbakk и соработниците во 1990 година први ја опишаа неговата способност за врзување со калциумот и неговото антимиembroно дејство врз ентеробактериите во крвните култури и *cryptococcus species* во цереброспиналната течност (123).

Припаѓа на фамилијата S100 протеини, поточно S100A8 / S100A. Тие се мултифункционални протеини со регулаторна улога во различни клеточни процеси. Своите активности ги остваруваат преку врзување со калциум, цинк и бакар. Овие протеини се нарекуваат S100 поради нивната растворливост во 100% заситен раствор на амониум сулфат при неутрална рН вредност. Промените во нивната експресија (интраклеточна и/или екстраклеточна) имаат важна улога во патогенезата на неуродегенеративните и воспалителните заболувања. Во ЕДТА (Ethylenediaminetetraacetic киселина) има ањонски својства, при електрофореза мигрира како  $\alpha_2$ - глобулин, додека во присуство на калциум има базни својства и мигрира како  $\gamma$ -глобулин (121-125).

Слика бр. 1.6.2.1. Структура на човечки калпротектин хетеротетрамер. S100A8 мономер во сина, S100A9 мономер во зелена и осум јони  $Ca^{2+}$  прикажани во црна боја.



Забелешка: Податоци од референца 121, 122.

### 1.6.2.1. Дистрибуција во клетките и ткивата

Калпротектинот е изолиран речиси од секоја можна телесна течност во човечкото тело (плазма, пљунка, урина, цереброспинална течност, асцит и фецес), ткива и клетки. Тој е главен протеин на миелоцитите и кератиноцитите. Во неутрофилите, калпротектинот се наоѓа во екстра лизозомалниот цитозол во концентрација од 5 до 15 ng/mL. Во помали количини го има во моноцитите и активните макрофаги, додека експресијата на калпротектин на површината од мембраните на гранулоцитите и моноцитите е варијабилна (125).

Тој директно се ослободува од леукоцитите за време на интеракција со воспалителните предизвикувачи на местото на воспаление. Зголемено ниво на калпротектин во плазмата се пронајде кај воспалителните хронични заболувања како што се ревматоиден артритис, јувенилен идиопатски артритис, воспалителни заболувања на цревата, мултиплекс склероза, цистична фиброза и системски лупус еритематозус. Кај овие заболувања, вредноста на серумскиот калпротектин е во директна корелација со активност на болести и лабораториски варијабилни на воспаление како С-реактивен протеин и стапка на седиментација на еритроцити. Отпорен е на



ензимската деградација, што му дава предност пред другите маркери на воспаление (126).

### **1.6.2.2. Биолошка функција**

Калпротектинот е еден од главните регулаторни протеини во воспалителните процеси. Бактерицидното и мукостатичното дејство на овој протеин е речиси еднакво на антибиотик. Покрај тоа, калпротектинот е вклучен во процесот на апоптоза, ги инхибира металопротеазите, има хемотактичка функција, а истовремено го стимулира производство на имуноглобулините (127-131).

### **1.6.2.3. Калпротектин како дијагностички маркер за СБП**

Концентрацијата на калпротектин во асцитот е во позитивна корелација со бројот на ПМНК  $\geq 250$  клетки / 1 mL, како стандарден маркер за дијагноза на СБП. Последниве неколку години, неколку студии објавија дека концентрацијата на калпротектин во асцитот е во позитивна корелација со неутрофилната активност во инфективниот процес, односно со бројот на ПМНК  $\geq 250$  клетки / 1 mL и е значително повисок кај пациенти со СБП отколку кај оние без СБП (132-142).

Според некои автори вредноста на калпротектин од 0,445  $\mu\text{g} / \text{ml}$  во асцит е добар индикатор за дијагноза на СБП со сензитивност од 95,4% и специфичност од 85,2% , додека според други вредноста од 1,57  $\mu\text{g} / \text{ml}$  има дијагностичка сензитивност од 87,8% и специфичност од 97,9% (139, 144).

Од друга страна докажано е дека односот на калпротектинот во асцит со вкупните протеини во асцитот е подобар дијагностички, но и прогностички маркер за СБП, отколку самиот калпротектин, со сензитивност од 93% и специфичност од 79% (133, 141).

Користењето на калпротектинот селективно кај пациенти со градиент на албуминот во серум/асцит над 11 g / l дополнително ја зголемува сензитивноста и негативната прогностичка вредност на тестот (141).

Покрај дијагностичката вредност на калпротектинот, докажано е и неговото прогностичко значење кај пациентите со црnodробна цироза. Високото ниво на калпротектин во серумот е лош прогностички знак за преживување на пациентите со

црнодробна цироза од етилна генеза, а истовремено може да биде и независен предиктор за појава на рекурентен СБП (137, 143, 144).

Висината на калпротектинот во асцитната течност корелира со почетокот и текот на СБП и хепаталната енцефалопатија (ХЕ). Пациентите со црнодробна цироза имаат значајно зголемено ниво на калпротектин во споредба со здравите контроли, а тој пораст е пропорционален со степенот на црнодробното оштетување (проценета со Child-Pugh и MELD скорот), и стадиумот на ХЕ (проценета со West-Havenov-ата скала) (132, 134, 135).

## 1.7. ТЕРАПИЈА

Со емпириската антибиотска интравенозна (и.в.) терапија мора да се започне веднаш по поставување на дијагнозата, а видот на терапијата ќе зависи од профилот на болничките (назокомијални) и вонболничките здобиени (комунитивни) инфекции, бактериската резистентност и тежината на инфекцијата.

Цефалоспорините од трета генерација се прва линија за третман на комунитивните инфекции во земјите со ниска стапка на бактериска резистентност (cefotaksim (2 g/6 часа и.в.), ceftriaxon (1-2 g/14 часа и.в.) и ceftazidim (1 g/12-24 часа и.в.), додека во земјите со висока стапка на бактериска резистентност предност се дава на комбинираниите терапии: piperacillin/tazobactam, carbapenem или meropenem-linezolid (6, 143).

Алтернативна опција е комбинацијата на amoxicillin/clavulanic acid (1/0,2 g/8 часа и.в.), ofloxacin (2 x 400 mg/ден, орално), norfloxacin (400 mg/ден, орално), trimetoprim/sulfametaxasol (960 mg/ден, орално) и ciprofloxacin (200 mg/12 часа и.в.) (144).

Антибиотскиот третман трае од 5 до 7 дена (интравенозна апликација 7 дена, или комбинирана интравенозна и орална апликација 2+5 дена).

90% од пациентите имаат добар одговор на иницијалниот третман, а резолуцијата на СБП се докажува со намалување на бројот на ПМНК во асцит  $<250 / 1 \text{ mL}$  и стерилна микробиолошка култура доколку претходно била позитивна. Втората парацентеза се индицира 48 часа од почетокот на антибиотскиот третман со цел да се види терапискиот ефект.

Доколку дојде до влошување на клиничките знаци и симптоми и / или дојде до зголемување на бројот на ПМНК во асцитната течност, поради појава на бактериска

резистентност кон антибиотикот или развој на секундарен бактериски перитонитис, треба да се промени антибиотикот според антибиограм или терпијата да се модифицира со други алтернативни антибиотици со широк спектар (1, 6, 145-151).

Неколку студии покажаа дека ако на пациентите со оштетена бубрежна функција дополнително се додаде албумин во доза 1,5 g/kg телесна тежина првиот ден, и потоа 1 g/kg третиот ден на хоспитализацијата се намалува стапката на морталитет за 29 %, но истовремено се скратува и времетраењето на хоспитализацијата во споредба со оние кои не добивале албумин.

Пациентите со СБП со вредност на серумски билирубин  $\geq 68$  mlmol / L (4 mg / dl) или серумски креатинин  $\geq 88$  mlmol / L (1 mg / dl), треба да бидат третирани со албумин (1,5 g / kg првите два дена, а потоа 1 g / kg). Третманот со албумин не се препорачува кај пациенти со умерена слабост на црниот дроб и добра бубрежна функција (152, 153).

Профилактиката со антибиотици кај пациентите со црнодробна цироза и асцит мора да биде строго ограничена на пациенти кои имаат висок ризик за СБП. Се покажа дека рецидивите на СБП кај пациентите кои не добиле антибиотска профилакса се доста високи и се движат околу 70 % во првата година. Во отсуство на ризик фактори, инциденцијата на СБП е релативно ниска (20 % на годишно ниво).

Идентификувани се три групи пациенти кои треба да се третираат со антибиотска профилакса:

1. пациенти со ниски концентрации на албумини во асцит, Child-Pugh скор над 9, билирубин во серум 3 mg/dL, креатинин во серум 1,2 mg/dL, уреа во серум 25 mg/dL, натриум во серум 130 mEq/L, вкупни протеини во асцит пониски од 15 g / L и негативна историја за претходна епизода на СБП (примарна профилакса),
2. пациенти со претходна историја на СБП (секундарна профилакса) и
3. пациенти со акутно ГИТ крвавење (154-158).

Прв лек на избор за примарна и секундарна профилакса е norfloxacin-от (400 mg/ден). Norfloxacin-от го намалува ризикот за рецидив на СБП за 20% во првата година (159).

Профилактиката со norfloxacin треба да престане кога ќе се подобри клиничката слика и ќе исчезне асцитот или до трансплантација на црн дроб. За пациентите со ГИТ крвавење превентивно се препорачува краткотрајна антибиотска профилакса со norfloxacin во доза од 400 mg 2 два пати на ден (или trimetoprim/sulfametoksazolom) во траење од 7 дена.

Според најновите препораки, rifaximin-от не се препорачува како алтернатива на norfloxacin-от за примарна или секундарна профилакса. Меѓутоа, последниве години неколку студии ја потенцираа ефикасноста на rifaximin-от во превенцијата на рекурентната хепатална енцефалопатија (ХЕ), го подобри преживувањето на пациентите со црнодробна цироза и рефракторен асцит и ја намали инциденцијата на езофагијалните и гастрични варикозни крвавења кај пациентите со декомпензирана алкохолна цироза. Rifaximin-от има мал ефек на БТ и не влијае на цревната бактериска флора. Четиринеделен третман со rifaximin (200 mg 4x1) не дејствува на црнодробниот венски градиент, системската хемодинамика, гломеруларната филтрациска рата, или на нивото на вазоактивни хормони кај пациентите со декомпензирана цироза. Сè уште нема доволно податоци за придобивките и несаканите ефекти од комбинираната терапија со norfloxacin и rifaximin (6, 160-165).

## **1.8. ПРОГНОСТИЧКИ СКОРОВИ КАЈ ПАЦИЕНТИТЕ СО ЦРНОДРОБНА ЦИРОЗА**

Поради широкиот спектар на потенцијални компликации кои може да доведат до мултисистемското органско попуштање и смрт, многу е важно кај овие пациенти да се направи процена на должината на преживување и ризикот од смртен исход. Прогностичките скорови изразени во нумерички вредности, ја проценуваат тежината на актуелната состојба со примена на математички модели и особено се значајни во трансплантациската медицина (приоритет за хепатална трансплантација).

### **1.8.1. Child-Turcotte-Pugh скор**

Child-Turcotte-Pugh скорот (СТР скор) вклучува пет параметри: албумин и билирубин во крв, количина на асцит, степен на хепатална енцефалопатија и протромбинско време (ПВ) (166-168).

Последниве три децении се покажа дека овој скор е добар прогностички показател за преживувањето на пациентите со алкохолна и постхепатална цироза, примарна билијарна цироза, примарен склерозантен холангитис и Budd-Chiari синдром (169-172).

Според критичатите, недостатокот на овој скор е непрецизноста која може да се јави поради двата описни параметри: квантификација на асцитот и ХЕ чии вредности

зависат од искуството и личната процена на испитувачот. Исто така, тие нагласија дека овој скор е недоволно прецизен во разликувањето на вистинското клиничко значење на Ц категоријата, невклучување на бубрежните лабораториски параметри во евалуација на состојбата на пациентите, пред сè поради развојот на хепатореналниот синдром кај пациентите со терминална болест како главен фактор за летален исход (173, 174).

Со цел да се надминат овие проблеми, Angermaug и соработниците (175) направија ремоделирање на Child-Turcott-Pugh скорот (СТР скор) со вклучување на нов параметар, ниво на серумски креатинин. Според овој скор на базичните вредности на СТР скор се додаваат нумерички вредности (поени): 0 поени за вредност на креатинин помала од 114,92  $\mu\text{mol/L}$ , 2 поени за вредност на креатинин 114,92-159,12  $\mu\text{mol/L}$  и 4 за вредност на креатинин поголема од 159,12  $\mu\text{mol/L}$ . Анализите покажаа дека ремоделираниот СТР скор е подобар од базичниот СТР скор во предикција на ХЕ, но со иста прогностичка вредност во предикција на останатите компликации како и базичниот СТР скор. Значењето на СТР скорот во однос на преживувањето е добро проучен и се движи: А (5-7 поени) со медијана на годишно преживување 95% , Б (7-9 поени) со медијана на годишно преживување 80% и Ц (10-15 поени) со медијана на годишно преживување 45% (176).

Табела бр. 1.7.1.1. Табеларен приказ на едногодишното преживување на пациентите со црнодробна цироза според Child-Turcotte-Pugh II скорот

СТР категории	класа А	класа Б	класа Ц
поени	5-6	7-9	10-15
едногодишно преживување	100%	80%	45%

Забелешка: податоци од референца 176

Табела бр. 1.7.1.2. Табеларен приказ на Child-Turcotte-Pugh II скорот модифициран со креатинин во серум

Категорија	1	2	3
Енцефалопатија	Нема	1-2 степен преципитирана/ индуцирана/медикаментно контролирана	3-4 степен/хронична/ лошо контролирана
Асцит	Нема	благ/умерен медикаментозно контролиран	тежок/ рефрактерен на диуретици / лошо контролиран
билирубин ( $\mu\text{mol/L}$ )	<34	34-50	>50
албумин (g/L)	>35	28-35	<28
PT (sec)	<4	04 јуни	>6
INR	<1,7	1,7-2,3	>2,3
Серумски креатинин $\mu\text{mol/L}$	114,92 $\mu\text{mol/L}$ (0 поени)	114,92–159,12 $\mu\text{mol/L}$ (2 поени)	>159,12 $\mu\text{mol/L}$ ( 4 поени)

Забелешка: податоци од референца 175

Табела бр.1.7.1.3. Табеларен приказ на West-Haven-овите критериуми за хепатална енцефалопатија (ХЕ)

стадиум	свест	интелект и однесување	невролошки статус
0	нормална	нормално	нормален статус, минимална ХЕ при нарушени психомоторни тестови
I	благо нарушена	скратен опсег на внимание, нарушено собирање/одземање	благ астерикс,
			неразбирлив говор
II	летаргија	дезориентација, бизарно однесување	очигледен астерикс, неразбирлив говор
III	Сомноленција, но и раздразливост	мајорна дезориентација, бизарно однесување	мускулен ригидитет
			и клонус, хиперрефлексија
IV	кома	кома	децеребрациона поставеност на телото

Забелешка: податоци од референца 173, 174

### 1.8.2. MELD-скор (Model for End Stage Liver Disease)

MELD-скорот иницијално се појавува во 1999 година, за процена на преживувањето кај пациенти со трансјугуларен портосистемски шант (ТИПС) (177).

Следните години MELD-скорот се покажа дека е добар предиктор за краткорочното преживување, главен предиктор на морталитетот независно од етиологијата и официјално е прифатен за процена на пациентите кандидати за потенцијална кадаверична трансплантација (178, 179).

Во САД и Европа овој модел се употребува за да се предвиди тримесечното преживување на пациентите кои чекаат на списокот за трансплантација на црн дроб (180-182).

Според оригиналната формула, MELD-скорот е математичка формула која вклучува: серумски билирубин, серумски креатинин и ИНР.

$$\text{MELD} = 9,57 \times \ln (\text{креатинин mg/dl}) + 3,78 \times \ln (\text{билирубин mg/dl}) + 11,2 \times \ln (\text{ИНР}) + 6,43$$

Табела бр. 1.8.2.1. Табеларен приказ на предвидениот тримесечен морталитет пресметан со MELD-скор кај пациентите со црнодробна цироза

MELD-скор	предвиден тримесечен морталитет
>40	71,3%
30-39	52,6%
20-29	19,6%
10-19	6,0%
9	1,9%

Забелешка: податоци од референца 180, 181, 182.



## **2. МОТИВ**

Спонтаниот бактериски перитонитис е животозагрозувачка компликација кај пациентите со црнодробна цироза, и поради високата стапка на морталитет неопходно е брзо да се препознае и адекватно да се третира. Одредувањето на калпротектин во асцитната течност може да претставува супериорна метода во дијагностицирање на СБП, не само како алтернатива на конвенционалните дијагностички методи, туку и заради неговата предиктивна (рекурентни епизоди на СБП) и прогностичка вредност (корелација со стадиумот на црнодробната болест). Со воведувањето на оваа метода очекуваме поефикасна и побрза дијагноза на СБП, а со тоа и поголем успех во лекувањето и намалување на морталитетот на една вулнерабилна група на пациенти со ЦЦ.

Во Р. Македонија досега не е направена ни една студија за вредноста на одредувањето на калпротектинот во асцитната течност како дијагностички и прогностички маркер за СБП. Бројни студии во светот го обработуваат овој проблем обидувајќи се да дефинираат и посочат лабораториски параметри кои би биле корисни за рана дијагноза и прогноза на СБП а со тоа и успех на иницијалниот емпириски антибиотски третман, кај пациентите со ЦЦ.

### ***3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ***

3.1. Примарна цел: да се утврди вредноста на нивото на калпротектинот во асцитната течност како дијагностички и прогностички маркер за спонтан бактериски перитонитис кај пациентите со ЦЦ.

3.2. Секундарни цели:

- Да се спореди вредноста на калпротектинот во асцитот кај пациентите со СБП и без СБП.
- Корелација на вредноста на калпротектинот во асцитот со бројот на ПМНК во асцитот.
- Да се спореди вредноста на калпротектинот во асцитот кај пациентите со СБП пред почетокот на антибиотската терапија и 7-миот ден од започнувањето на терапијата.
- Да се одреди вредноста на калпротектинот во асцитот кај пациентите со позитивна бактериска култура на асцитна течност.
- Корелација на вредноста на калпротектинот во асцитот со вкупните протеини во асцитот и серумот.
- Корелација на вредноста на калпротектинот во асцитот со Ц-реактивниот протеин (ЦРП) во асцитот и серумот.
- Корелација на вредноста на калпротектинот во асцитот со присуство или отсуство на горнодигестивни крвавења.
- Корелација на вредноста на калпротектинот во асцитот со вредноста на Child-Turcotte-Pugh II и MELD скорот.

## **4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ**

### **4.1. Материјал**

- Студијата е дизајнирана како проспективно-аналитичко-опсерваториска и се спроведе на Универзитетската клиника за гастроентерохепатологија во Скопје во период од една година.
- Студиска популација: хоспитализирани пациенти со етаблирана црнодробна цироза, без оглед на етиологијата.
- Број на испитаници: 70 пациенти.

#### **4.1.1. Поделба на пациентите по групи**

1. Испитуваната група – опфати 35 пациенти со дијагностициран СБП (според однапред предвидени критериуми), хоспитално лекувани на Клиниката за гастроентерохепатологија.
2. Контролната група – опфати 35 испитаници со слични демографски карактеристики како испитуваната група, хоспитално лекувани на Клиниката за гастроентерохепатологија, со стерилен асцит (не СБП), кај кои беа испитани сите варијабли како во испитуваната група.

#### **4.1.2. Критериуми за вклучување во студијата**

Селекцијата на испитаниците кои беа вклучени во студијата беше спроведена според однапред утврдени инклузиони и ексклузиони критериуми.

##### **4.1.2.1. Инклузиони критериуми**

- пациенти со црнодробна цироза без оглед на етиологијата,
- возраст >18–70 години.

##### **4.1.2.2. Ексклузиони критериуми**

- возраст <18 години,
- акутна црнодробна инсуфициенција,
- неодамнешна абдоминална хируршка интервенција (<3 месеци).
- инфективен плеврален излив,
- карциноматоза на перитонеум,

- хеморагичен асцит (од кое било потекло),
- хепатоцелуларен карцином,
- преегзистирачка срцева болест,
- преегзистирачка хронична бубрежна болест,
- имунокомпромитирани пациенти и оние кои примале антибиотик најмалку 2 недели пред вклучувањето во студијата,
- пациенти кои користат нестероидни противовоспалителни лекови (НСАИЛ), орални контрацептивни лекови и антикоагулантни лекови.

#### 4.2. Методи и имплементирање на истражувањето

Во студијата беа вклучени пациенти со претходно потпишана информирана согласност (за испитувањата на кои беа подложени).

##### 4.2.1. Клинички преглед:

- анамнеза
- општ статус
- статус на абдомен

##### 4.2.2. Историја на болест:

- етиологија
- времетраење на болеста
- анамнеза за претходни дијагностички/тераписки постапки поврзани со црнодробната цироза
- актуелно применувана терапија за третман на црнодробната болест и нејзините компликации.

##### 4.2.3. Витални параметри (крвен притисок, срцева фреквенција, респираторна фреквенција, оксигенација).

##### 4.2.4. Биохемиски анализи и биохемиска методологија во крв:

- Крвна слика: еритроцити (Ер), леукоцити (Ле), тромбоцити (Тр), со користење на автоматски клеточен контра-модел Sysmex Kx N 21, (IFCC метода). Референтни вредности за Ле:  $4-9 \times 10^9/L$ , референтни вредности за Тр:  $150-450 \times 10^9/L$

- Вкупен, директен и индиректен билирубин во серум: ќе се одредува со фотометриски колор-тест за квантитативно одредување во серум и плазма со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности на вкупен билирубин: до 20,5  $\mu\text{mol/L}$ .
- Вкупни протеини, албумини, глобулини во серум: ќе се одредува со фотометриски колор-тест за квантитативно одредување во серум/ плазма и асцит со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности на протеини во серум: 62-81 g/L. Албумини во серум: 35-50 g/L, глобулини: 27-35 g/L.
- Аспартат аминотрансфераза во серум (АСТ): кинетички УВ-тест за одредување на АСТ во серум со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности: 10-34 U/L.
- Аланин аминотрансфераза во серум ( АЛТ): кинетички УВ-тест за одредување на АЛТ во серум со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности: 10-45 U/L.
- Гама-глутамил трансфераза во серум ( ГГТ): кинетички колор -тест за квантитативно одредување на ГГТ во серум и плазма со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности: 9-64 U/L.
- Алкална фосфатаза во серум (АФ): фотометриски серум /плазма со автоматизиран анализатор Architect 4100. Референтни вредности: 36-126 U/L.
- Уреа во серум: фотометриски за одредување во серум /плазма со автоматизиран анализатор Architect 4100. Референтни вредности: 2,7-7,8  $\mu\text{mol/L}$ .
- Креатинин во серум: фотометриски за одредување во серум/плазма со автоматизиран анализатор Architect 4100. Референтни вредности: 45-109  $\mu\text{mol/L}$ .
- Електролити (натриум, калиум и калциум) во серум со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abott Laboratories Dijagnostics. Референтни вредности: натриум (На): 137-145 mmol/L, калиум (К): 3,8-5,5 mmol/L, калциум (Ца): 2,1-2,6 mmol/L.
- Коагулационен статус: протромбинско време (ПТ) и ИНР од венска крв со Na citrat како антикоагуланс со автоматски аналајзер Clot 2000-турбидометрински. Референтни вредности ИНР: 0,7-1,2.

- Ц-реактивен протеин во серум (ЦРП): се одреди со имунотурбидиметриска метода со користење на латекс партикули како олеснувачи-подобрувачи на реакцијата на апарат Architect. 4100. Референтни вредности: до 6 mg/L.

#### 4.2.5. Биохемиски анализи и биохемиска методологија во асцит:

- Вкупни протеини: ќе се одредува со фотометриски колор-тест за квантитативно одредување во серум/ плазма и асцит со Architect 4100 и оригинални реагенси на фирмата Abbott Laboratories Diagnostics. Протеини во асцит <10 g/ L и > 10 g/ L.
- Ц-реактивен протеин (ЦРП) во асцит: 3 mL асцит со имунотурбидиметриска метода со користење на латекс партикули како олеснувачи-подобрувачи на реакцијата на апарат Architect. 4100. Референтни вредности: до 6 mg/ L.
- Квантитативно мерење на калпротектин во асцит со тестот Quantum Blue Calprotectin Ascites (LF-ASC25), со помош на Quantum Blue Reader (читач).

Принцип на тестот: тестот е дизајниран за селективно мерење на антигенот на калпротектин (MRP8 / 14) со директен сендвич имуноесеј. Мембраната за тестирање е обложена со првото моноклонално антители (mAb), кое е специфично за фаќање на калпротектинот. Второто моноклонално антители го конјугира калпротектинот со колоидното злато и потоа го пушта во системот на реакција по додавањето на разредениот примерок од асцитот. Анти / калпротектинот – калпротектинот конјугиран со злато се врзува за анти-калпротектин антителата со кои е обложена мембраната (тест-линија; тест-лента), а преостанатиот слободен анти-калпротектин конјугиран со злато се врзува за goat anti-mouse антитела со кои е обложена мембраната за испитување (контролна линија; контролна лента). Примероците од асцитот се разредуваа со Chase Buffer во однос 1:5 и по 12 минути инкубација на собна температура, интензитетот на сигналот на линијата за тестирање и контролната линија се мереа квантитативно со BÜHLMANN Quantum Blue®Reader. Процедура: собраните примероци на асцитот се чуваа во стерилни епрувети во фрижидер на температура - 20 °C без какви било хемиски или биолошки адитиви. Постојат две методи за читање на тестот: со внатрешен тајмер и без внатрешен тајмер. Ние ја користевме првата метода во која скенирањето започнуваше автоматски по 12 минути (720 секунди).

Опсегот на концентрациите на калпротектин во асцит ќе се движи од 0,18 µg/mL до 1,80 µg/mL.

- 4.2.6.** Број на ПМНК, се утврди директно од нецентрифугираниот дел на асцитот. 3 ml течност ќе се стават во EDTA епрувета за процена на вкупниот број на клетки и ПМН клетки, броење со користење на автоматски клеточен контра-модел Sysmex KxN 21.
- 4.2.7.** Микробиолошка анализа на асцитот во Институт за микробиологија: 10 mL од асцитот се испита за бактериска култура (bottle method) респективно.
- 4.2.8.** Парацентеза. Парацентезата се изведе под асептични услови кај пациент во лежечка позиција и пункција во лев или десен долен квадрант на стомакот, со ултразвучна визуализација (ниеден пациент немаше компликации поврзани со дијагностичката парацентеза). Сите примероци за дијагностичко тестирање веднаш беа упатени во Централната клиничка лабораторија. Од вкупно 20 mL асцит, 5 mL се користеа за автоматско броење на ПМНК, 5 mL за микробиолошка култура (bottle method), 5 mL за квантитативно одредување на калпротектин и 5 mL за биохемиска анализа на асцитот. Истовремено за потребите од биохемисите анализи на крв се правеше венепункција на 10 mL крв.
- 4.2.9.** Серум-асцит албумин градиент (СААГ): градиентот помеѓу албумин во серум и асцит (англ. serum to ascites albumin gradient - SAAG) се користи за да се утврди етиологијата на асцитот и да се потврди присуството на портална хипертензија. Градиент <11 g/L и >11 g/L
- 4.2.10.** Ултрасонографски преглед на абдомен (ултрасонографски апарат samsung Acuson x 300, CH5-2 MHz конвексна сонда), се нотираат морфолошките и циркулаторни нарушувања во склоп на црнодробната цироза.
- 4.2.11.** Квантификација на асцитот се правеше со УЗ преглед:
1. Нема асцит
  2. Минимално количество асцит
  3. Средно големо количество асцит
  4. Големо количество асцит
- 4.2.12.** Прогностички скорови кај пациенти со црнодробна цироза и асцит:
- MELD-скор, според формулата:  $MELD = [(0,957 \times \ln \text{Creatinin}) + (0,378 \times \ln \text{Bilirubin}) + (1,12 \times \ln \text{INR}) + (0,643) \times 10]$  (93) (Табела бр. 1.8.2.1).
  - Child-Turcotte-Pugh II скор вклучува 6 параметри: албумин и билирубин во серум, количина на асцит, степен на енцефалопатија, ПВ и креатинин во серум

(Табела бр. 1.7.1.2), а процена на степенот на хепатална енцефалопатија со West-Haven-овите критериуми (Табела бр. 1.7.1.3).

**4.2.13.** Квантификација на степенот на хепатална енцефалопатија се правеше со користење на West-Haven скала (Табела бр. 1.7.1.3):

- Нулти степен: минимална енцефалопатија без детектибилни промени на личноста, однесувањето, помнењето, концентрацијата, интелектуалните функции и координацијата. Asterixis отсутен.
- Прв степен: хиперсомнија, инсомнија, инверзија на сонот, промени во афектот (еуфорија, депресија, иритабилност), конфузија, забавеност.
- Втор степен: летаргија, апатија, дезориентација во време, видлив asterixis, видлива промена во лучноста.
- Трет степен: сомнолентност, дезориентација во време и простор, амнезија, конфузност од потежок степен, неповрзан говор.
- Четврти степен: кома без одговор на надворешни дразби.

**4.2.14.** Горнодигестивна ендоскопија: дијагнозата за крвање од варикозитети на хранопровод и/или фундусни варикси на желудник се постави врз основа на клинички преглед и горнодигестивна ендоскопија во Кабинетот за дигестивна ендоскопија на Клиниката за гастроентерохепатологија со флексибилен ендоскоп од марката Olympus и Pentax. Ќе се нотира присуство или отсуство на горнодигестивно (варикозно) крвање.

**4.3.** Критериуми за спонтан бактериски перитонитис:

- клиничка слика,
- бројот на ПМНК во асцит  $\geq 250$  / 1 mL и/или
- бројот на ПМНК  $< 250$  / во 1 mL асцитна течност, со изолиран еден бактериски вид во микробиолошката култура (КННА).

**4.4.** Имплементирање на истражувањето

Податоците од клиничкиот преглед и од предвидените испитувања беа внесувани во соодветни поединечни студиски формулари.

Клиничкиот и ултразвучниот преглед на абдоменот беа реализирани на Универзитетската клиника за гастроентерохепатологија во Скопје, биохемиските анализи на Универзитетската клиника за клиничка биохемија, микробиолошка анализа на асцитот на Институтот за микробиологија во Скопје.



Прва визита: 0-тиот ден од хоспитализацијата, кај пациентите со ЦЦ беа анализирани:

- демографските карактеристики (пол, возраст),
- клиничките карактеристики (анамнеза и статус),
- венепункција (биохемиски анализи во серум),
- ултрасонографски преглед,
- горнодигестивна ендоскопија,
- дијагностичка парацентеза (во стерилни услови, под контрола на ултразвук, кај пациент во лежечка позиција во долниот лев или десен квадрант),
- Биохемиска анализа на асцитот (ПМНК, калпротектин, протеини, ЦРП),
- микробиолошка анализа на асцитот,
- процена на стадиумот на црнодробната болест со примена на: Child-Turcotte-Pugh II и MELD скор.

Втора визита: 48-72 часа од хоспитализацијата (по добивање на резултатите од биохемиската и микробиолошката анализа на асцитот) се формира испитуваната и контролната група.

Во испитуваната група беа вклучени пациентите кои ги исполнуваат условите за дијагноза на СБП:

- клиничка слика,
- бројот на ПМНК  $\geq 250 / 1 \text{ mL}$  и/или
- бројот на ПМНК  $< 250 / 1 \text{ mL}$  асцитна течност, со изолиран еден бактериски вид во микробиолошката култура.

Во контролната група беа вклучени пациентите со број на ПМНК  $< 250 / 1 \text{ mL}$  и негативна микробиолошка култура на асцитната течност.

Пациентите од испитуваната група започнаа со антибиотски третман во согласност со актуелните препораки за лекување и терапија на СБП:

- ПМНК  $\geq 250 / 1 \text{ mL}$  беа третирани со иницијален емпириски антибиотски третман,
- ПМНК  $< 250 / 1 \text{ mL}$  асцитна течност, со изолиран еден бактериски вид во микробиолошката култура беа третирани според добиениот антибиограм.

Трета визита: 7-миот ден од започнувањето со антибиотскиот третман, кај испитаниците од испитуваната група се направи нова парацентеза, за да се одреди бројот на ПМНК и нивото на калпротектинот во асцитот.

Од студијата беа исклучени пациентите кај кои пред завршување на протоколот ќе се утврди присуство на некој од ексклузивните критериуми, доколку не се придржуваат кон протоколот на студијата, или доколку одлучат да го прекинат своето учество.

#### **4.5. Информирана согласност од сите субјекти вклучени во студијата**

По претходно запознавање со структурата, содржината и целта на студијата, како услов за учество во истата пациентите ја потпишаа понудената информирана согласност. Протоколот на студијата е во согласност со етичките принципи на Декларацијата од Хелсинки. Протоколот и информираната согласност беа приложени на разгледување и одобрени од Етичката комисија на Медицинскиот факултет при Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје.

## 5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА

Собраните податоци се обработуваат со помош на статистичката програма SPSS 20 и Statistica for Windows-верзија 10 и следниве статистички методи:

- Базите на податоците се формираат со примена на специфични компјутерски програми наменети за таа намена. Нивната обработка се изврши со помош на стандардни дескриптивни и аналитички биваријантни и мултиваријантни методи;
- Атрибутивните статистички серии се анализираат со одредување на коефициент на односи, пропорции, стапки и со одредување на статистичката значајност меѓу откриените разлики;
- Нумеричките серии се анализираат со мерки на централна тенденција и со мерки на дисперзија на податоците;
- Статистичка сигнификантност на веројатноста меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабилности се проценува со тестот на разлика (Difference test), а меѓу нумеричките серии со помош на Student-ов t-тест;
- Корелативните односи се реализираат со помош на Pearson-овиот коефициент на корелација, доколку се работи за нормална дистрибуција и Spearman rank R корелација.
- За анализа се користеше и ROC (Receiver Operator Characteristic) - кривата
- Користена е мултиплната регресија (Multiple regression) за да се утврди врската помеѓу зависната критериумска варијабла и системот на предвидливи променливи од интерес.
- Со Shapiro-Wilk-овиот тест се тестираше нормалноста на дистрибуцијата на варијабилностите
- За CI (интервал на доверба - confidence interval 95% CI) беше дефинирано статистичко значење на ниво на стандардна грешка помала од 0,05 (p).
- Резултатите се прикажани во табели и графикони.

## 6. РЕЗУЛТАТИ

Истражувањето претставува проспективно-аналитичко-опсерваториска студија спроведена на Универзитетската клиника за гастроентерохепатологија во Скопје во период од една година. Со анализата беа опфатени 70 хоспитални пациенти со црнодробна цироза, поделени во две групи. Испитуваната група (ИГ, I) – 35 пациенти со дијагностициран СБП и Контролната група (КГ, II) во ист број со слични демографски карактеристики како испитуваната група со стерилен асцит.

Од нив во двете групи се 77,1 % од машкиот пол и 22,9 % од женскиот пол, со просечна возраст од  $60,9 \pm 10,2$  во ИГ и  $57,5 \pm 11,7$  во КГ. Разликата која се регистрира меѓу просечната возраст е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (t-тест = 1,305448,  $p = 0,196140$ ) (таб. 1, 2 и граф. 2), станува збор за хомогени групи во однос на возраста и полот.

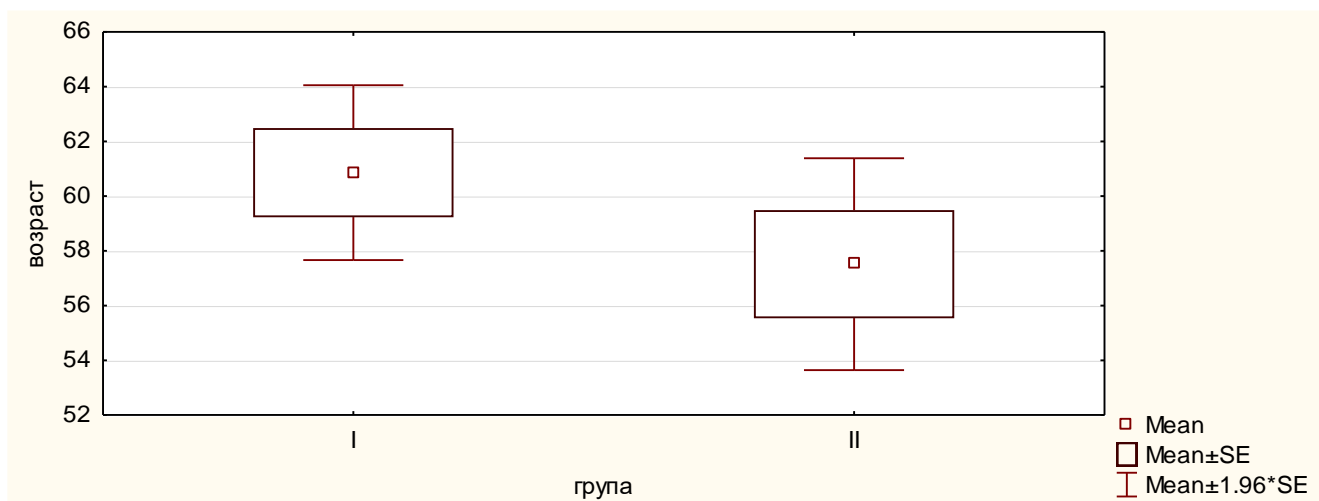
Табела бр. 1 Приказ на пациентите според полот

група	ИГ		КГ	
	број	%	број	%
мажи	27	77,1	27	77,1
жени	8	22,9	8	22,9
вкупно	35	100,0	35	100,0

Табела бр. 2 Приказ на просечната возраст на пациентите и Student-ов t-тест

просек – ИГ(I)	просек – КГ(II)	t-тест	p	Стд. Дев – ИГ	Стд. Дев – КГ
60,9	57,5	1,305448	0,196140	9,637985	11,68803

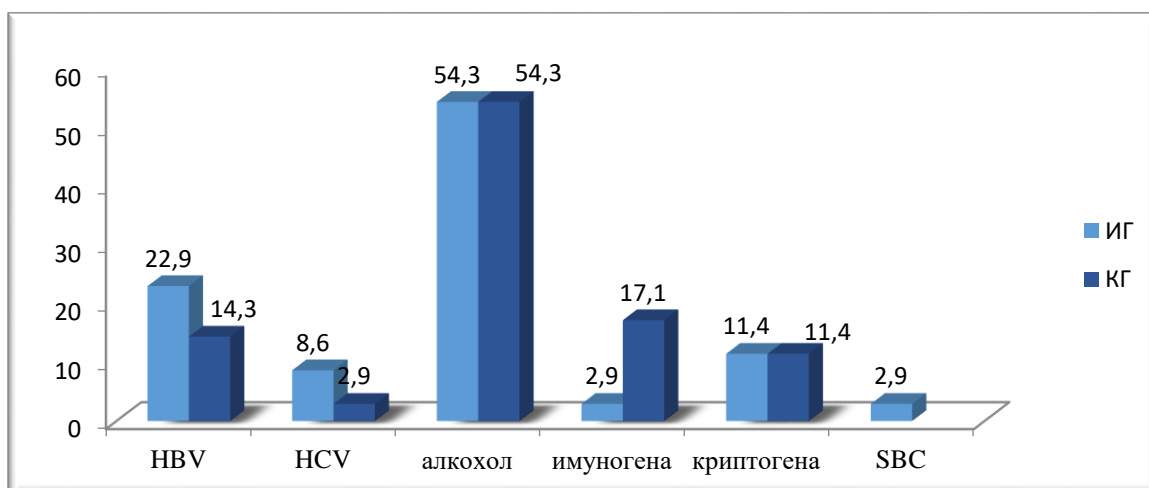
Графикон бр. 2 Приказ на просечната возраст на пациентите



Табела бр. 3 Приказ на етиологијата за црнодробна цироза кај испитаниците

група	ИГ		КГ	
	број	%	број	%
ХБВ	8	22,9	5	14,3
ХЦВ	3	8,6	1	2,9
алкохол	19	54,3	19	54,3
имуногена	1	2,9	6	17,1
криптогена	4	11,4	4	11,4
СБЦ	1	2,9		
вкупно	35	100,0	35	100,0

Табела бр. 3 Приказ на етиологијата за црнодробна цироза кај испитаниците

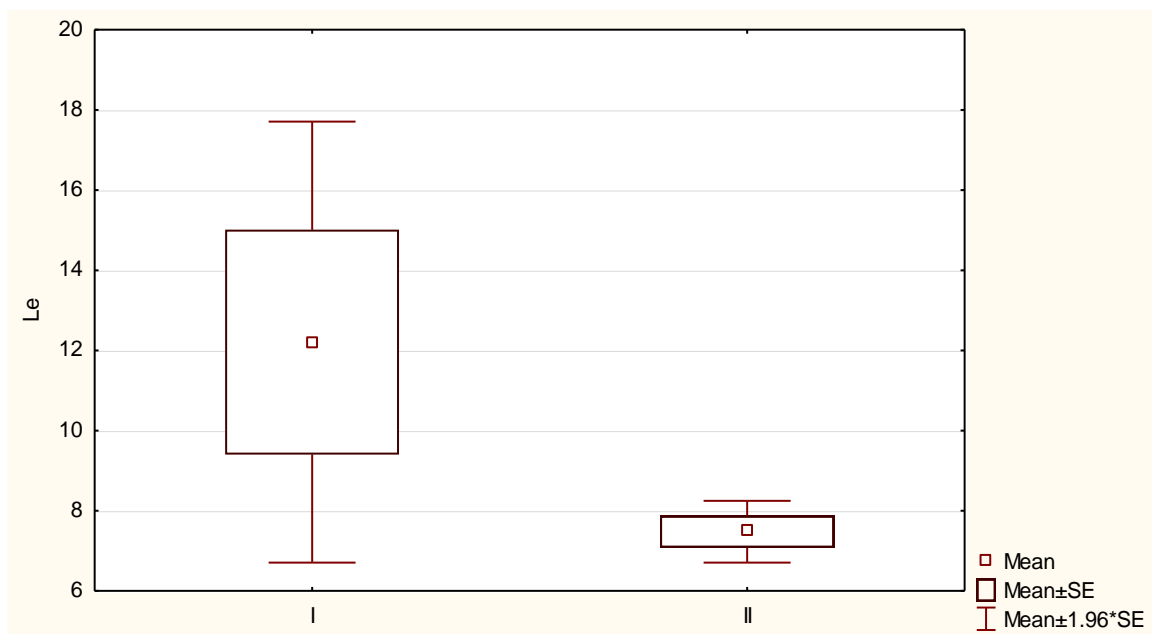


Вирусна етиологија во ИГ се регистрира кај 31,5%, а во КГ кај 17,2% (ИГ – ХБВ=22,9% и ХЦВ=8,6%; КГ – ХБВ=14,3% и ХЦВ=2,9%), кај еден (2,8%) пациент од ИГ се регистрира двоен наод и на ХБВ и на ХЦВ. И во двете групи кај повеќе од половина - 54,3% се регистрира алкохолот како причина. Имуногена етиологија се регистрираше кај 2,9% во ИГ и 17,1% во КГ. Криптогена етиологија се регистрираше кај 11,4% во двете групи. Етиолошка причина СБЦ се регистрираше кај еден пациент во ИГ (таб. и граф. 3).

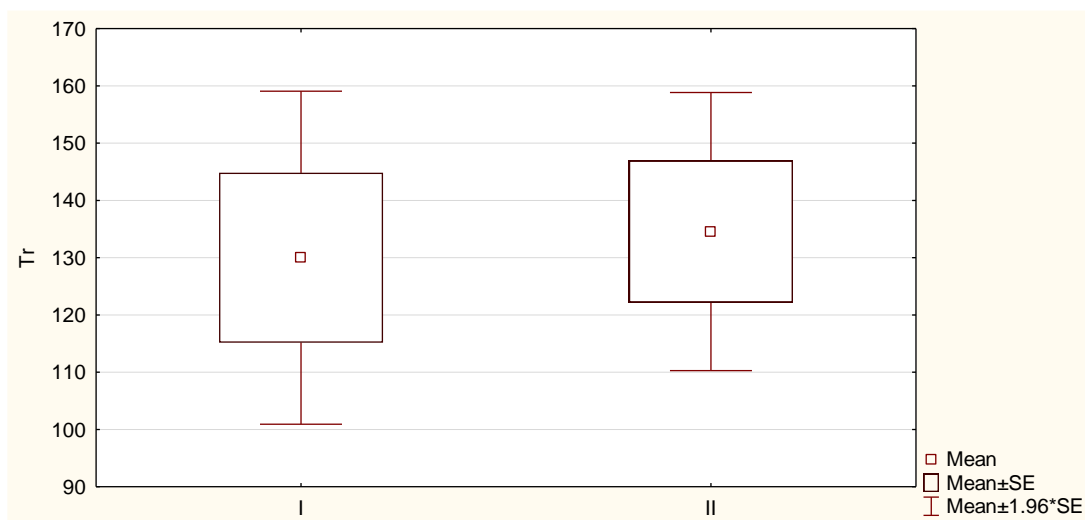
Табела бр. 4 Приказ на просечните вредности на анализата на Ле и Тр и Student-ов t-тест

параметри	просек – ИГ(I)	просек – КГ(II)	t-тест	p	Стд.Дев – ИГ	Стд.Дев - КГ
Ле	12,2	7,5	1,669007	0,099714	16,60227	2,324940
Тр	130,0	134,5	-0,236480	0,813771	87,79857	73,28481

Графикон бр. 4 Приказ на просечните вредности на леукоцити



Графикон бр. 4а Приказ на просечните вредности на тромбоцити



Просечната вредност на леукоцитите во ИГ е повисока од горната граница на референтните вредности –  $12,2 \pm 16,6 \times 10^9/L$ , а во КГ е во граници на референтните вредности  $7,5 \pm 2,3 \times 10^9/L$  (реф.  $4-9 \times 10^9/L$ ). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. и граф. 4).

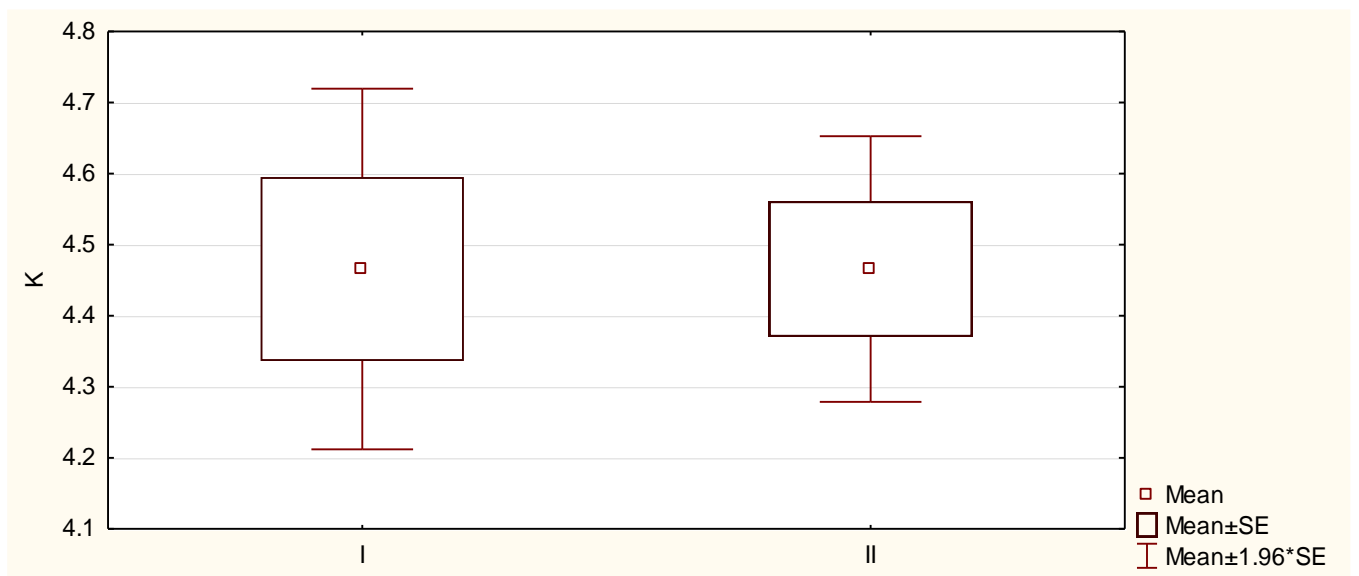
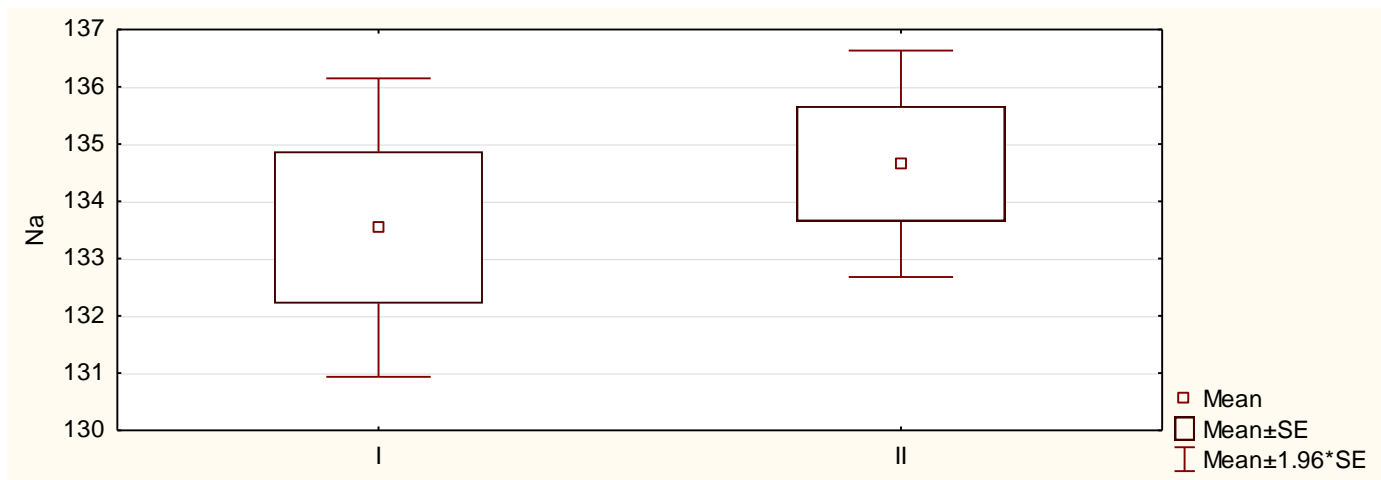
Просечната вредност на тромбоцитите во ИГ е пониска од референтните вредности –  $130,0 \pm 87,9 \times 10^9/L$ , а во КГ изнесува  $134,5 \pm 73,3 \times 10^9/L$  (реф.  $150-450 \times 10^9/L$ ). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 4 и граф. 4а).

Табела бр. 5 Приказ на просечните вредности на анализата на електролитен статус и Student-ов t-тест

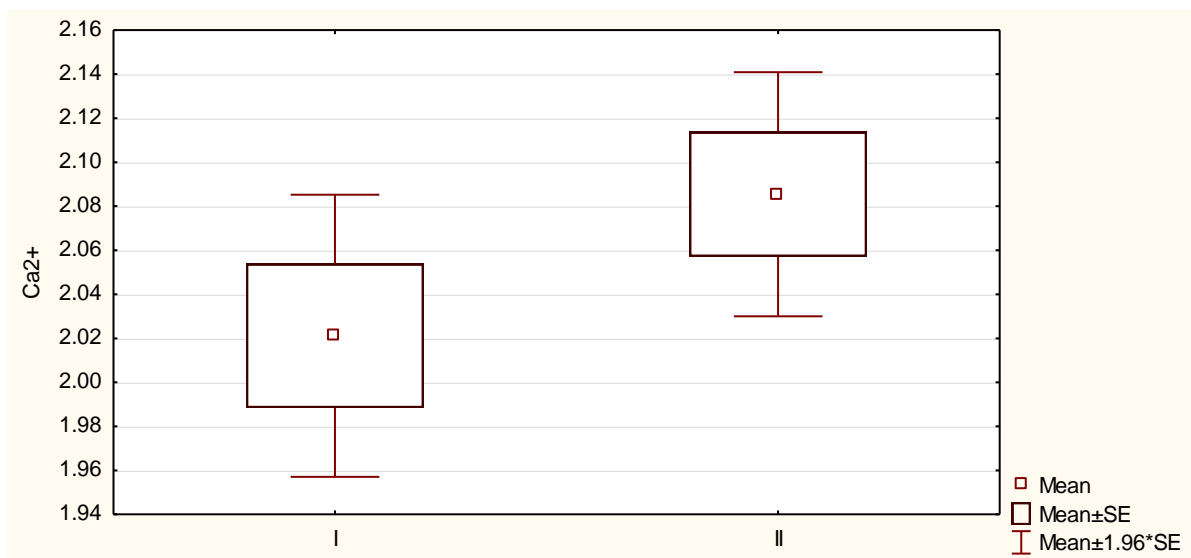
	просек – ИГ(I)	просек – КГ(II)	t-тест	p	Стд. Дев – ИГ	Стд. Дев- КГ
Na	133,5	134,7	-0,66766	0,506609	7,867816	5,965306
K	4,5	4,5	-0,00000	1,000000	0,766176	0,564094
Ca	2,0	2,1	-1,48636	0,141807	0,193524	0,167391

Графикон бр. 5 Приказ на просечните вредности на анализата на електролитен статус

5а



5в





Просечната вредност на На во ИГ и во КГ е под границата на референтните вредности,  $133,5 \pm 7,9$  mmol/L и  $134,7 \pm 6,0$  mmol/L (реф. 137-145 mmol/L). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 5 и граф. 5а).

Просечната вредност на К во ИГ и во КГ е во граница на референтните вредности,  $4,5 \pm 0,8$  mmol/L и  $4,5 \pm 0,6$  mmol/L. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 5 и граф. 5б).

Просечната вредност на Ца во ИГ и во КГ е во граница на референтните вредности  $2,0 \pm 0,2$  mmol/L и  $2,1 \pm 0,2$  mmol/L. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 5 и граф. 5в).

Просечната вредност на вкупни протеини во серум кај ИГ изнесува  $64,1 \pm 9,3$  g/L, а во КГ изнесува  $65,7 \pm 11,9$  g/l, и се во граница на референтните вредности. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 6 и граф. 6а).

Просечната вредност на албумините во серум кај ИГ изнесува  $25,3 \pm 5,5$  g/L, а во КГ изнесува  $28,3 \pm 5,3$  g/l, и се под долната граница на референтните вредности (реф. 35-50 g/L). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест = -2,31587;  $p = 0,023588$ ) (таб. 6 и граф. 6б).

Просечната вредност на глобулини во серум кај ИГ изнесува  $39,3 \pm 8,1$ , а во КГ изнесува  $37,4 \pm 11,3$ , вредностите се повисоки од референтните вредности (30-35 g/l). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 6 и граф. 6в).

Просечната вредност на вкупен билирубин во ИГ изнесува  $92,6 \pm 92,4$   $\mu$ mol/L, а во КГ вредноста е пониска и изнесува  $75,8 \pm 113,0$   $\mu$ mol/L, и во двете групи се над референтните (реф. до 20,5  $\mu$ mol/L), разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 6 и граф. 6г).

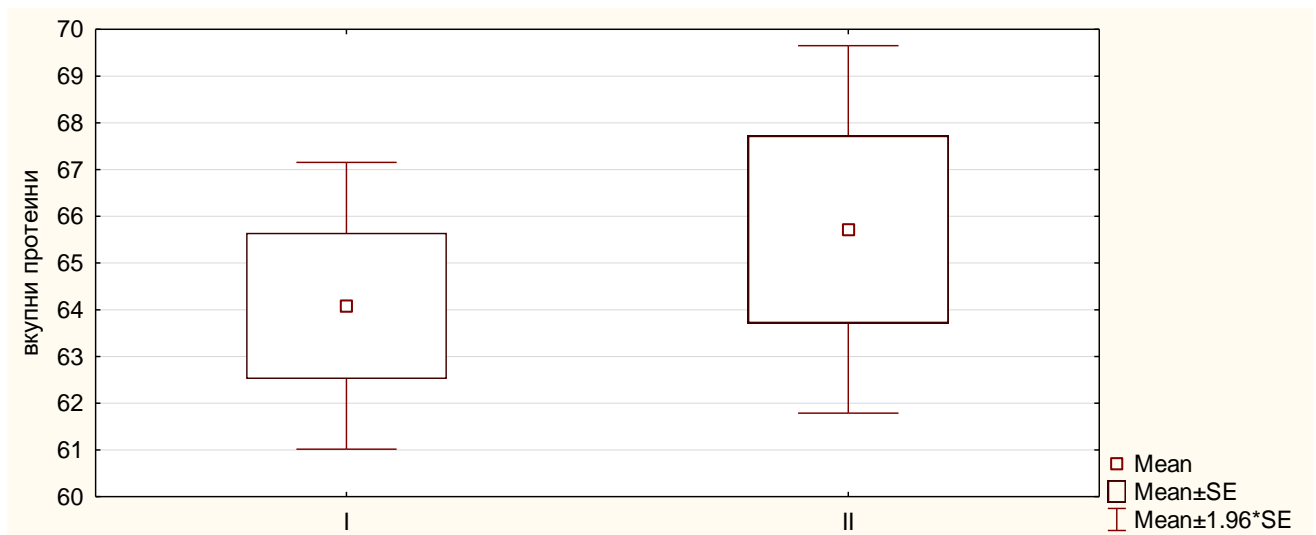
Просечната вредност на директен билирубин во ИГ изнесува  $62,4 \pm 67,8$   $\mu$ mol/L, а во КГ просечната вредност е пониска и изнесува  $52,6 \pm 89,2$   $\mu$ mol/L. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 6 и граф. 6д).

Просечната вредност на индиректен билирубин во ИГ изнесува  $29,9 \pm 27,8$   $\mu$ mol/L, а во КГ изнесува  $22,8 \pm 26,1$   $\mu$ mol/L. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 6 и граф. 6ѓ).

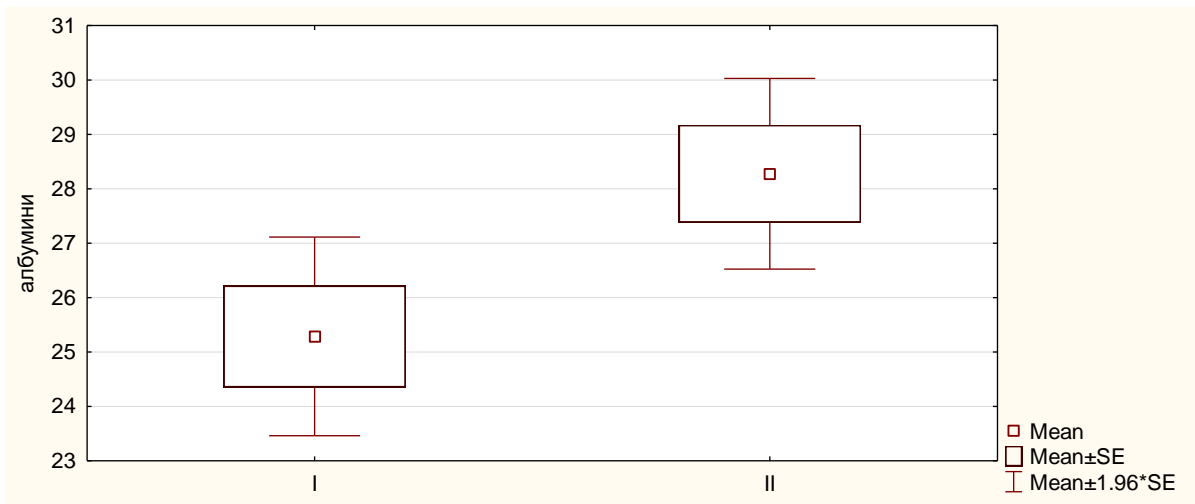
Табела бр. 6 Приказ на просечните вредности на анализата на протеинскиот статус во серум, ВБ и Student-ов t-тест

	просек – ИГ(I)	просек – КГ(II)	t-тест	p	Стд.Дев - ИГ	Стд.Дев - КГ
вкупни протеини	64,1	65,7	-0,64281	0,522508	9,262085	11,86771
албумини	25,3	28,3	-2,31587	0,023588	5,510134	5,28863
глобулини	39,3	37,4	0,82109	0,414464	8,099027	11,34957
вкупен билирубин	92,6	75,8	0,675980	0,501380	92,03876	112,9657
директен билирубин	62,4	52,6	0,510142	0,611654	67,81981	89,1500
идиректен билирубин	29,9	22,8	1,095029	0,277425	27,84504	26,1010

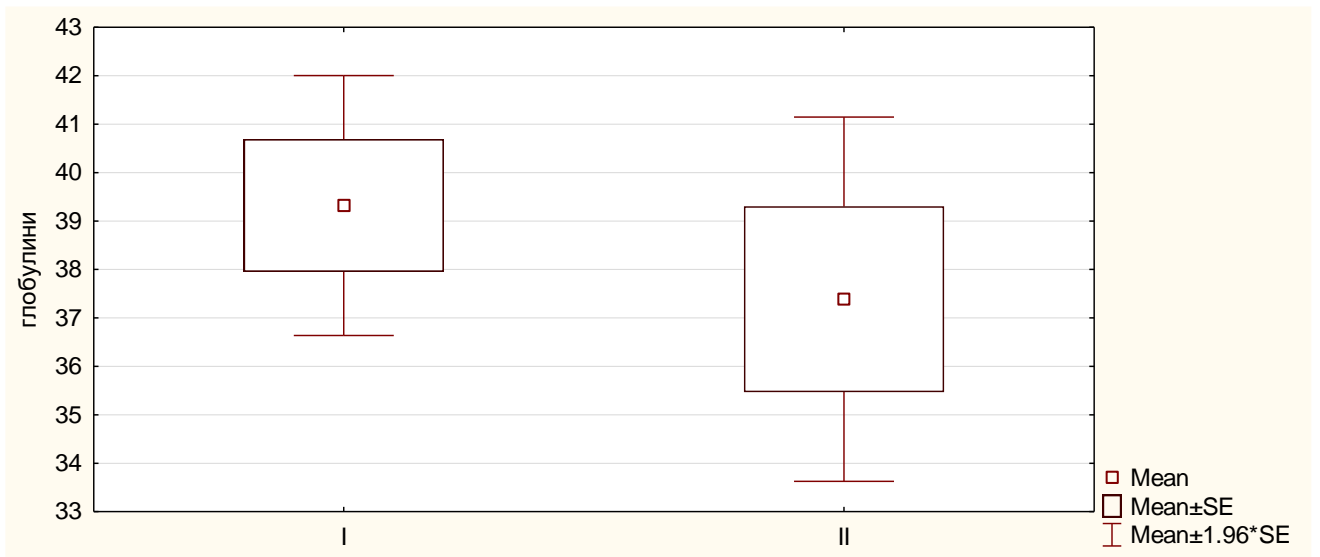
Графикон бр. 6 Приказ на просечните вредности на анализата на протеинскиот статус ба



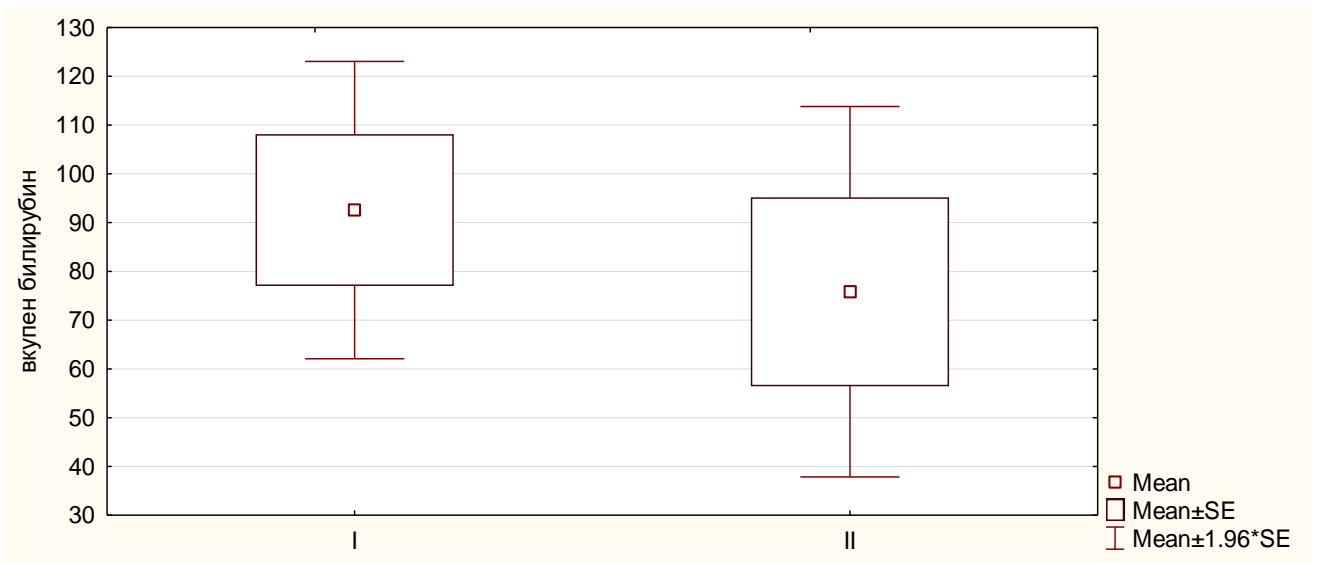
66



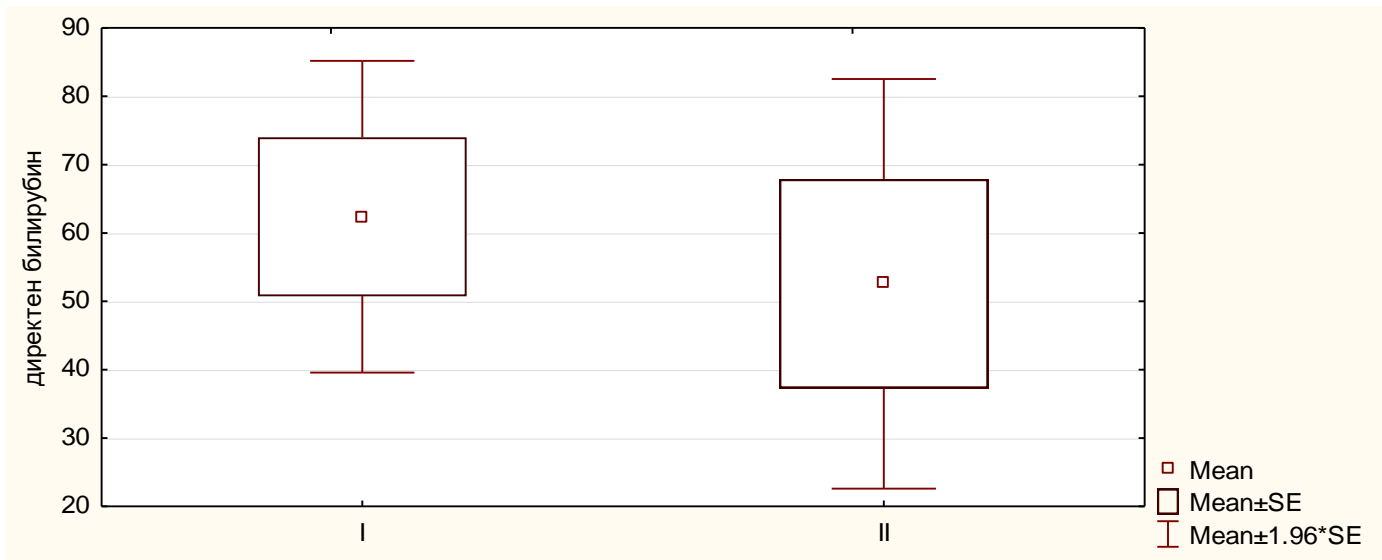
6B

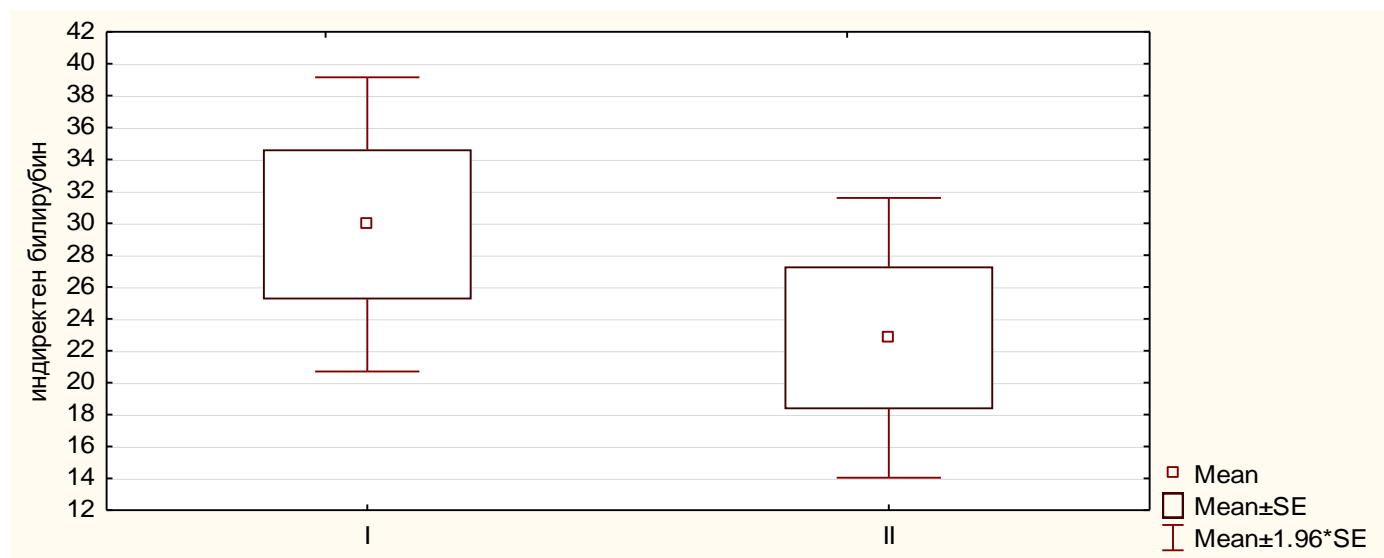


бг



бд



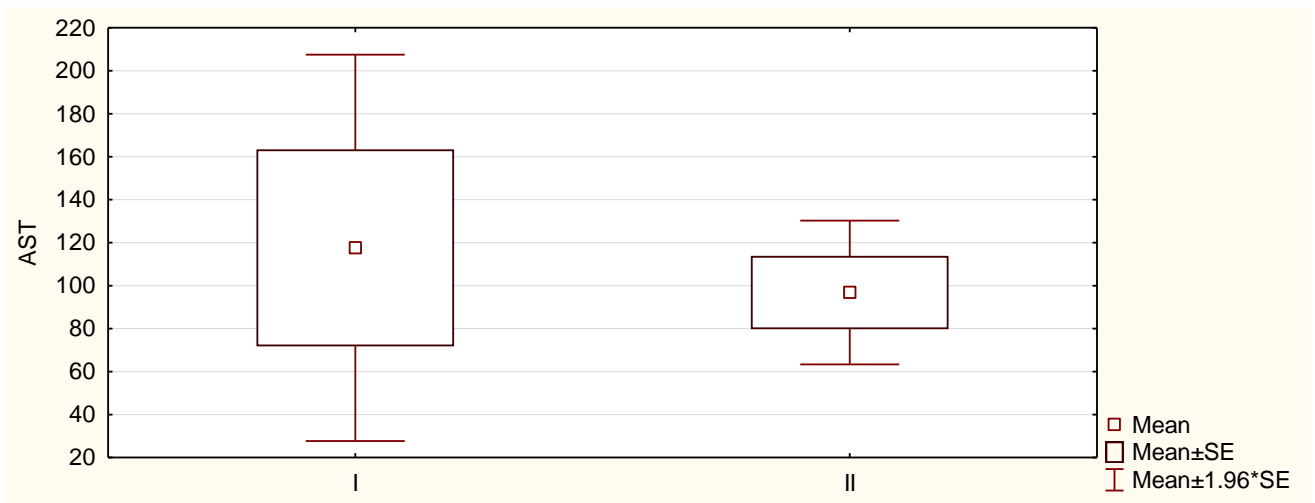


Табела бр. 7 Приказ на просечните вредности на анализата на ензимскиот статус, деградациски продукти, ИНР, ПВ, ЦРП серум и Student-ов t-тест

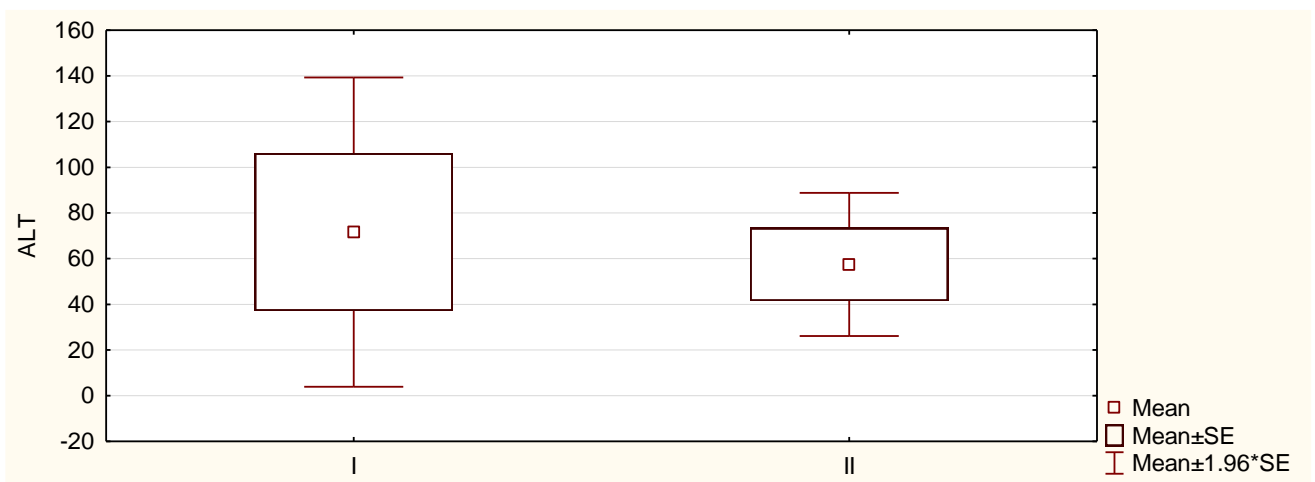
	просек – ИГ	КГ	t-тест	p	Стд. Дев - ИГ	Стд. Дев - КГ
АСТ	117,6	96,8	0,424906	0,672246	271,2690	101,0657
АЛТ	71,6	575	0,371835	0,711172	204,3667	94,6042
ГГТ	161,2	75,5	2,299581	0,024644	208,9827	59,7019
АП	150,8	118,0	1,318741	0,191813	138,5287	36,3318
уреа	11,4	8,0	1,663906	0,100733	11,0790	5,1798
креатинин	140,3	79,8	3,241561	0,001843	104,6464	35,2018
ИНР	1,7	1,5	2,214836	0,030125	0,4792	0,2345
ПВ	18,2	16,5	2,141307	0,035836	4,2661	2,2837
ЦРП-серум	35,4	18,6	2,83033	0,006132	29,46989	18,72097

Графикон бр. 7 Приказ на просечните вредности на анализата на ензимскиот статус, деградациски продукти, ИНР, ВП, ЦРП

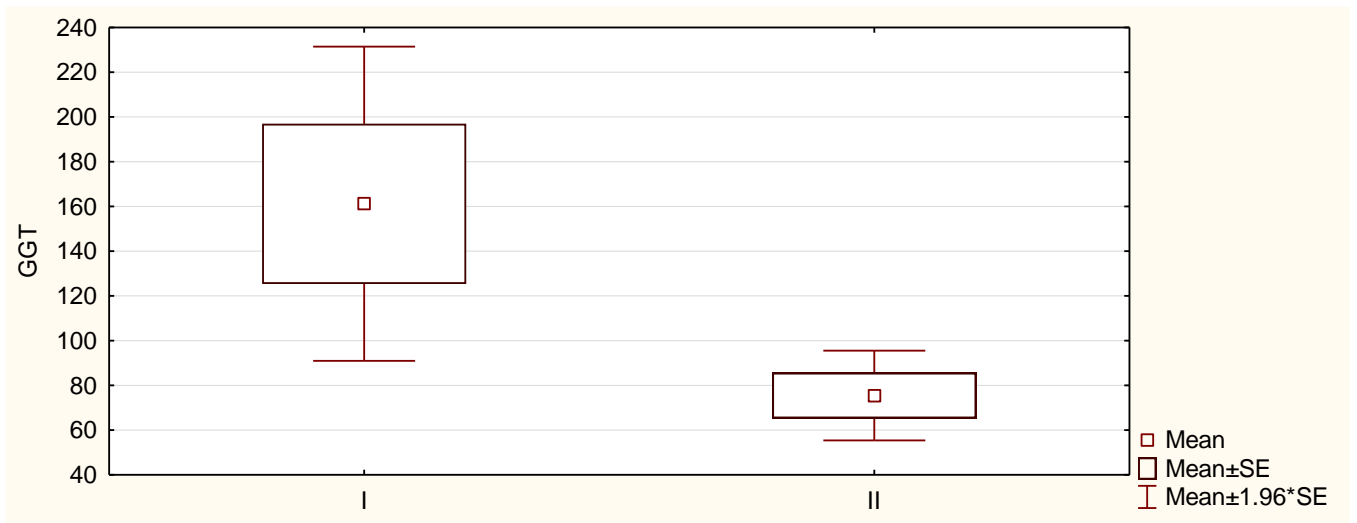
7a



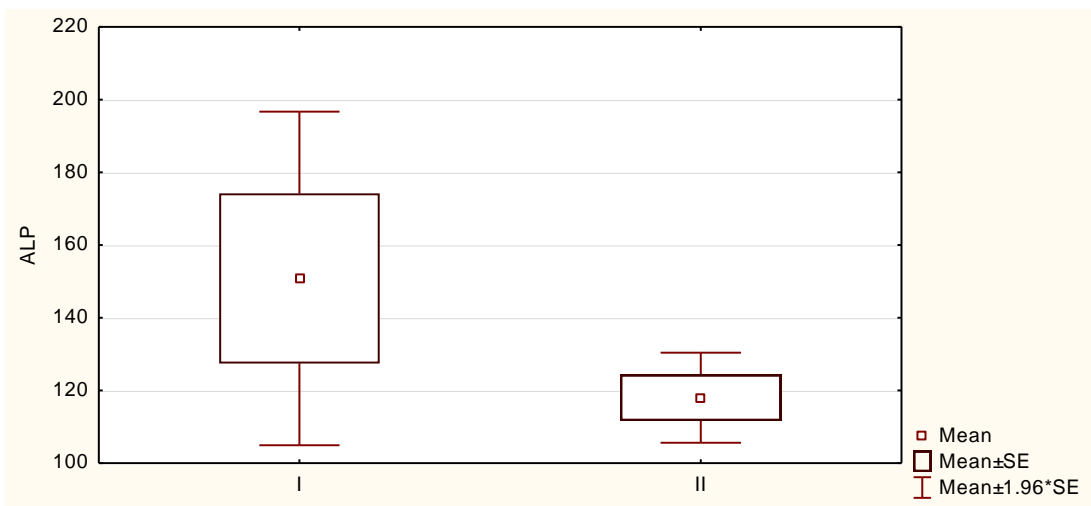
7б



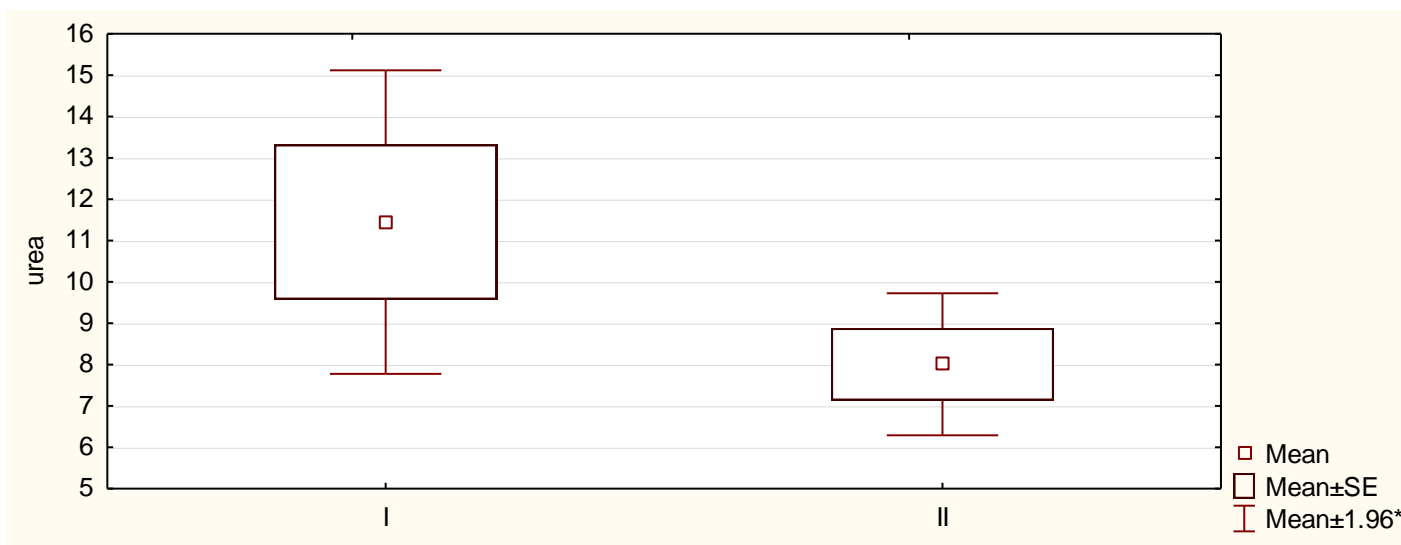
7B



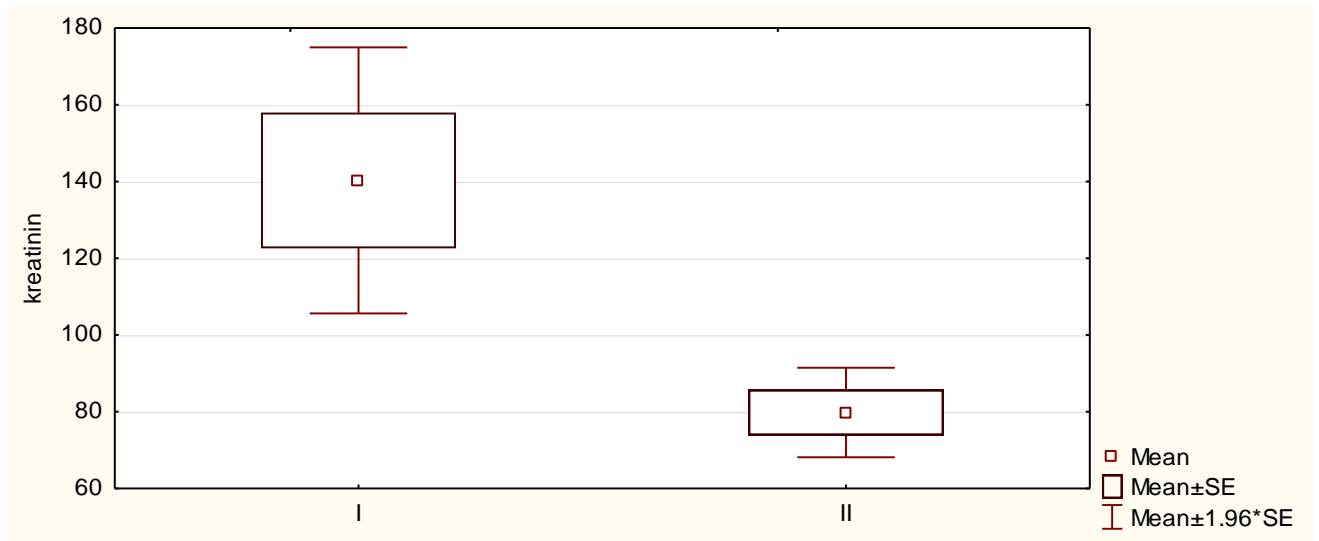
7Г



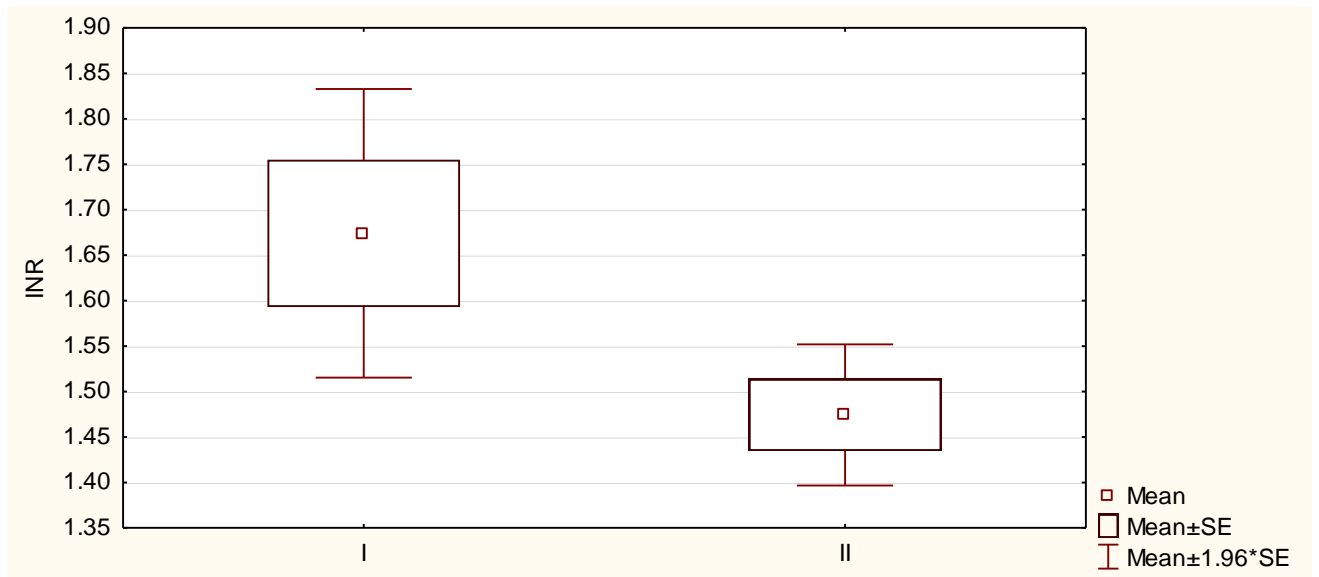
7Д



7f

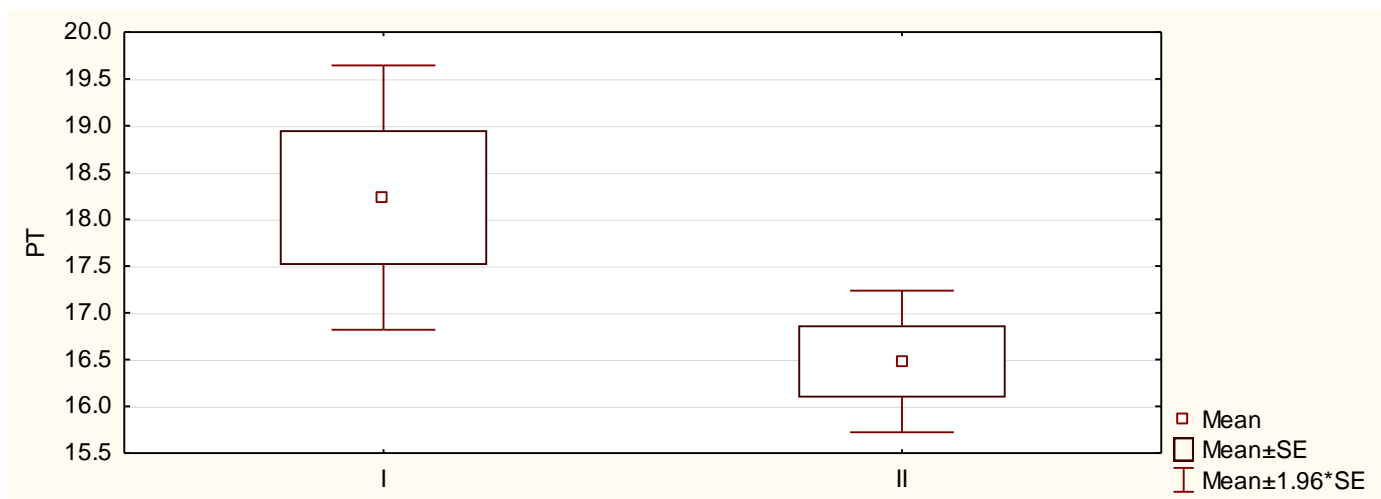


7e

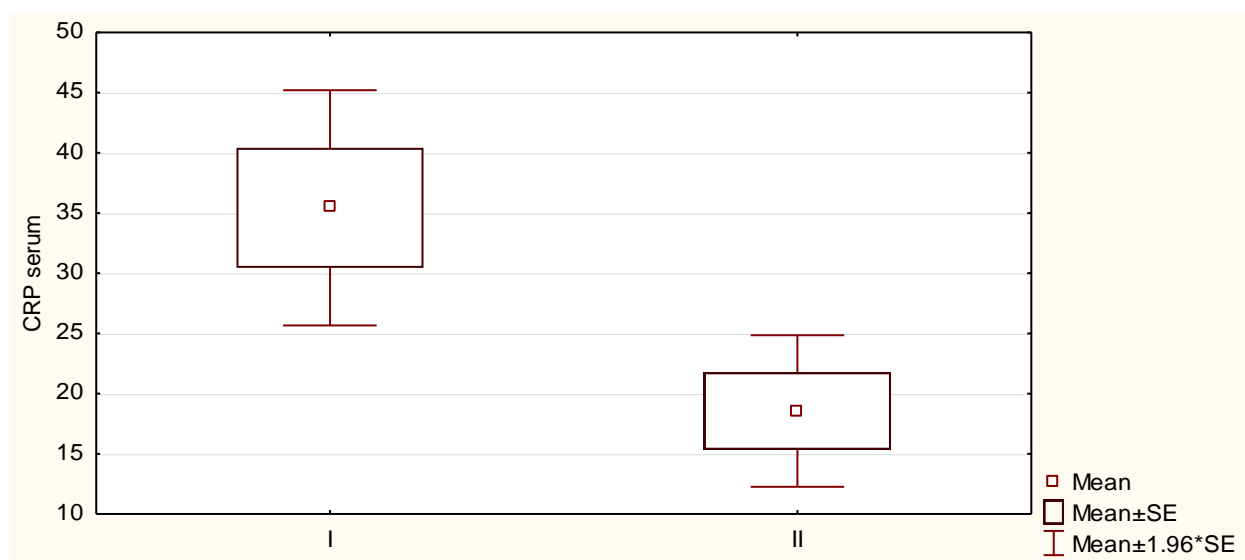




7ж



7з



Просечната вредност на АСТ во ИГ изнесува  $117,6 \pm 71,3$  U/L, а во КГ вредноста е пониска и изнесува  $96,8 \pm 100,1$  U/L, но двете вредности се повисоки во однос на референтните вредности. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 7 и граф. 7а).

Просечната вредност на АЛТ во ИГ изнесува  $71,6 \pm 204,4$  U/L, а во КГ изнесува  $57,57 \pm 94,6$  U/L, и се во граница на референтните вредности. Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 7 и граф. 7б).

Просечната вредност на ГГТ во ИГ изнесува  $161,2 \pm 209,0$ , а во КГ е пониска и изнесува  $75,5 \pm 59,7$ , вредностите во двете групи се во границите на референтните вредности.

Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест =2,299581;  $p=0,024644$ ) (таб. 7 и граф. 7в).

Просечната вредност на АП во ИГ изнесува  $150,8 \pm 138,5$ , а во КГ вредноста е пониска и изнесува  $118,08 \pm 36,3$ , разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 7 и граф. 7г).

Просечната вредност на ИНР во ИГ изнесува  $1,7 \pm 0,5$ , а во КГ просечната вредност е пониска и изнесува  $1,5 \pm 0,2$  и двете вредности се над референтните (реф. 0,7-1,2). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест =2,214836;  $p=0,030125$ ) (таб.7 и граф. 7е).

Просечната вредност на ПВ кај ИГ изнесува  $18,2 \pm 4,3$ , а во КГ е пониска и изнесува  $16,5 \pm 2,3$ . Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест =2,141307;  $p=0,035836$ ) (таб. 7 и граф. 7ж).

Просечната вредност на ЦРП во серум во ИГ изнесува  $35,4 \pm 29,51$  mg/L, а во КГ е пониска и изнесува  $18,6 \pm 18,71$  mg/L. Двете просечни вредности се повисоки од референтната вредност (реф. до 6 mg/L). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t=2,83033;  $p=0,006132$ ) (таб. 7и граф. 7з).

Просечната вредност на креатинин во ИГ изнесува  $140,3 \pm 104,6$ , а во КГ изнесува  $79,8 \pm 35,2$  и се во граници на референтните вредности (реф. 53-115  $\mu\text{mol/l}$ ). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,5$  (t-тест =3,241561;  $p=.001843$ ) (таб. 7 и граф. 7г).

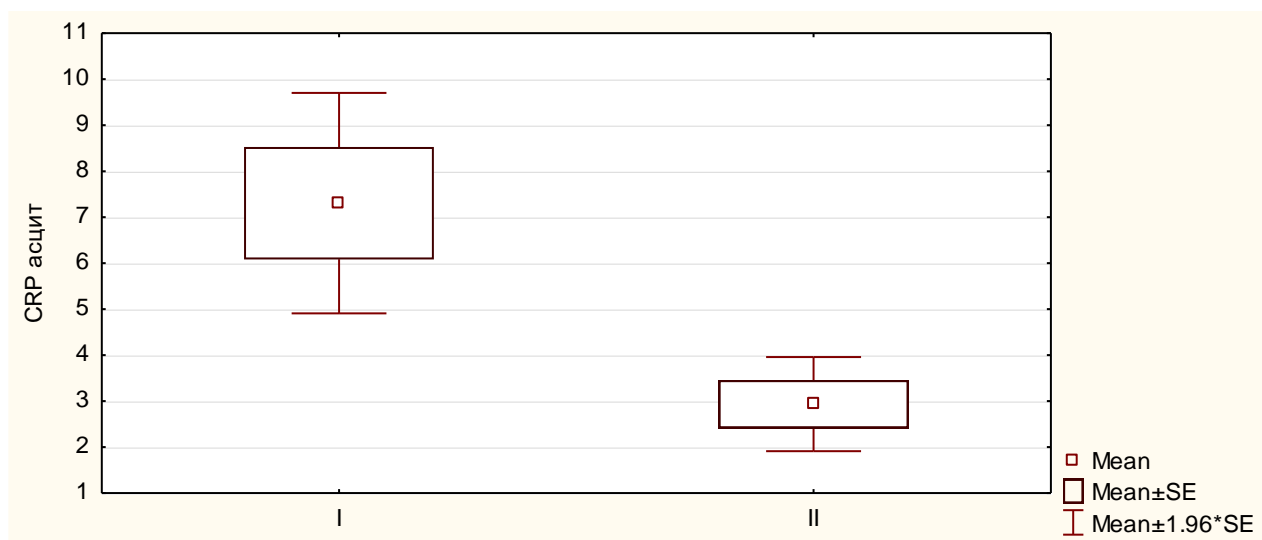
Просечната вредност на уреа во ИГ изнесува  $11,4 \pm 11,0$  mmol/L, а во КГ изнесува  $8,0 \pm 5,2$  mmol/L, просечните вредности и во двете групи се повисоки од референтните вредности (2,5-7,5 mmol/L). Разликата помеѓу просечните вредности е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 7 и граф. 7д).

Табела бр. 8 Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во асцит и Student-ов t-тест

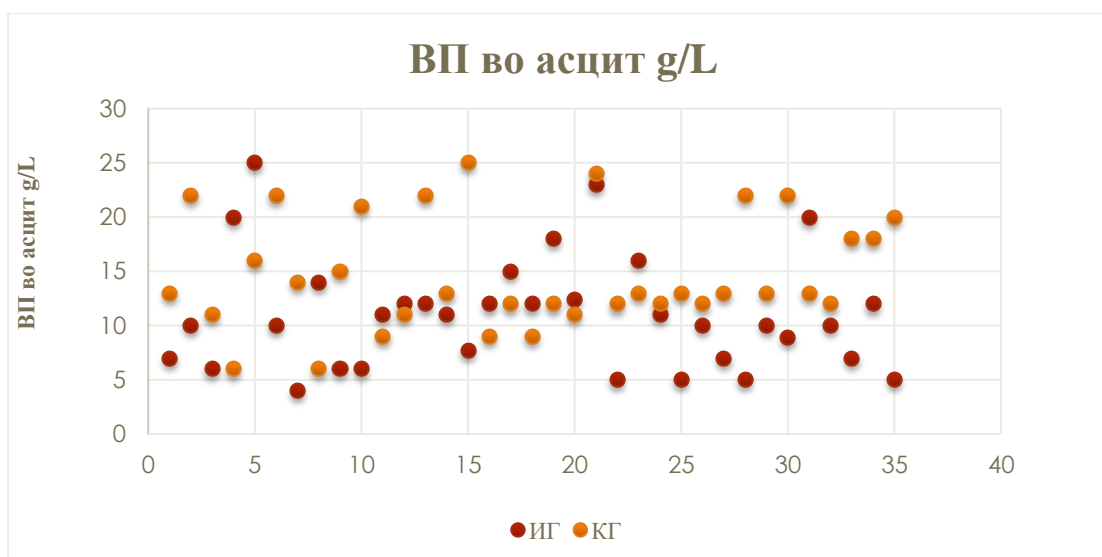
во асцит	просек ИГ(I)	просек КГ(II)	t-тест	p	Стд. Дев ИГ	Стд. Дев КГ
ЦРП	7,3	2,9	3,28708	0,001604	7,23541	3,08887
вкупни протеини	11,0	14,74	-2,97984	0,001998	5,27058	5,15833
СААГ	19,0	23,2	-3,46512	0,000922	4,553510	5,476152

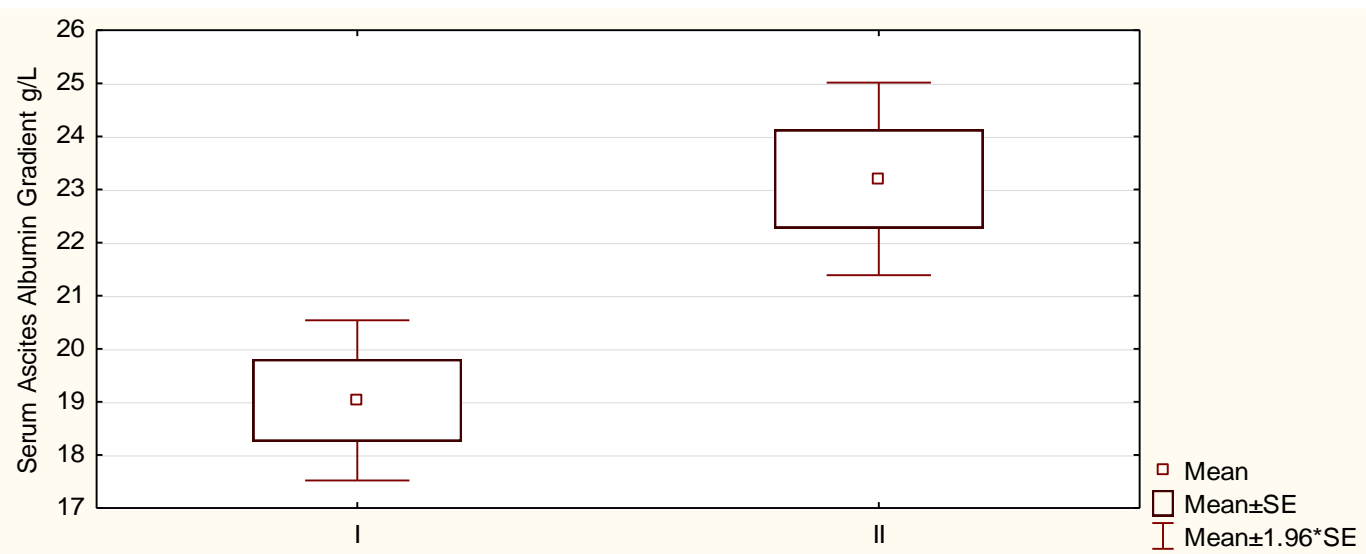
Графикон бр. 8 Приказ на просечните вредности на испитуваните параметри во асцит: ЦРП, ВП и СААГ.

8а



8б





Просечната вредност на ЦРП во асцит кај ИГ изнесува  $7,3 \pm 7,2$ , а во КГ е пониска и изнесува  $2,9 \pm 3,11$ . Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест=3,28708;  $p=0,001604$ ) (таб. 8 и граф. 8а).

Просечната вредност на вкупни протеини во асцит кај ИГ изнесува  $11,03 \pm 5,27$ , а во КГ просечната вредност е повисока и изнесува  $14,74 \pm 5,15$ . Разликата помеѓу просечните вредности според Mann-Whitney U Test е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест= -2,97984;  $p=0,001998$ ) (таб. 8 и граф. 8б).

Просечната вредност на СААГ (Serum Ascites Albumin Gradient g/L) во ИГ изнесува  $19,0 \pm 4,6$ , а во КГ просечната вредност е повисока и изнесува  $23,2 \pm 5,5$ . Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест=3,46512;  $p=0,000992$ ) (таб. 8 и граф. 8д).

Просечната вредност на калпротектин во асцит кај ИГ изнесува  $1,5 \pm 0,40$ , а во КГ просечната вредност е пониска и изнесува  $0,4 \pm 0,30$ . Разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (t-тест=12,70849;  $p=0,000000$ ) (таб. 9 и граф. 9а, 9г).

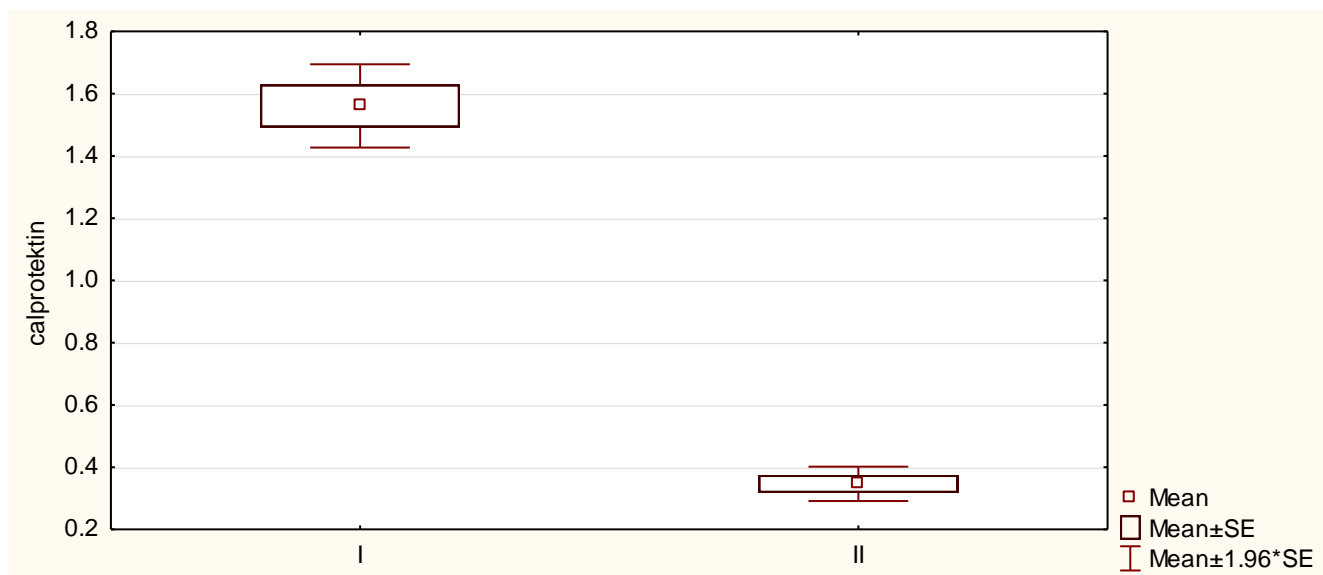
Просечната вредност на калпротектин во асцит пред терапија во ИГ изнесува  $1,5 \pm 0,4$ , а по терапијата /антибиотска вредноста значително се намалува и изнесува  $1,0 \pm 0,6$ ,

разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Wilcoxon Matched Pairs-тест,  $T=5,00000$ ;  $Z=4,594930$ ;  $p=0,000004$ ) (таб. 9 и граф. 9б, 9в).

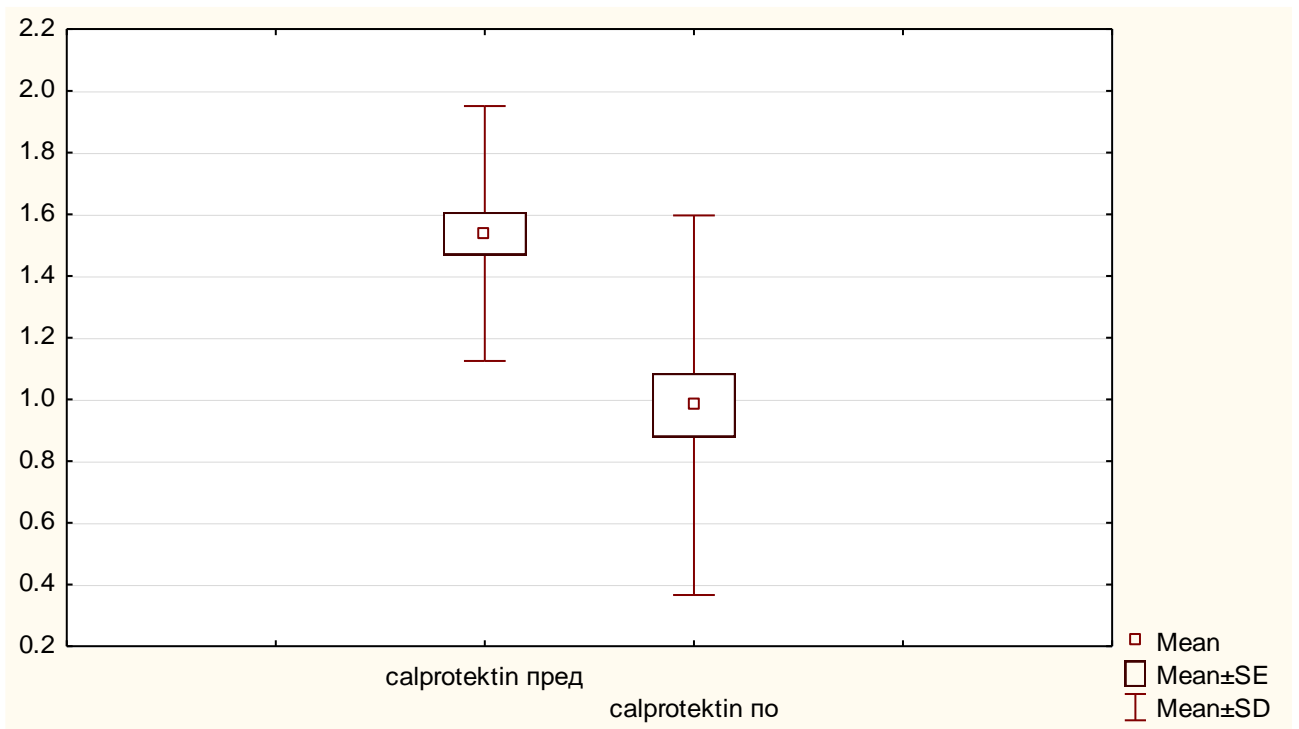
Табела бр. 9 Приказ на просечните вредности на калпротектин во асцит во двете групи и Student-ов t-тест, и калпротектин пред и по терапија во ИГ и Wilcoxon Matched Pairs-тест

	просек ИГ(I)	просек КГ(II)	t-тест	p	Стд. Дев ИГ	Стд. Дев КГ
калпротектин пред	1,6	0,34	16,42819	0,000000	0,404060	0,166926
калпротектин по	1,0				0,611101	
Wilcoxon Matched Pairs-тест		<b>T</b>	<b>Z</b>	<b>p-value</b>		
		5,000000	4,594930	0,000004		

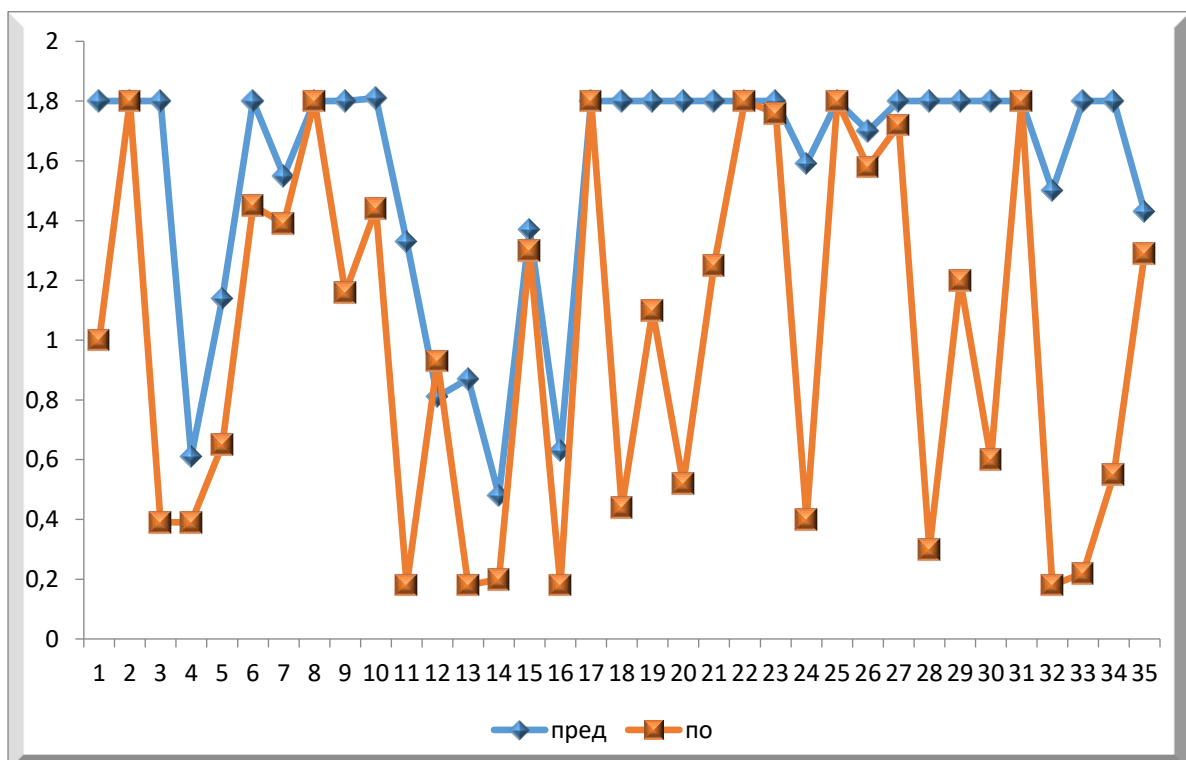
Графикон бр. 9а Приказ на просечните вредности на калпротектин во двете групи



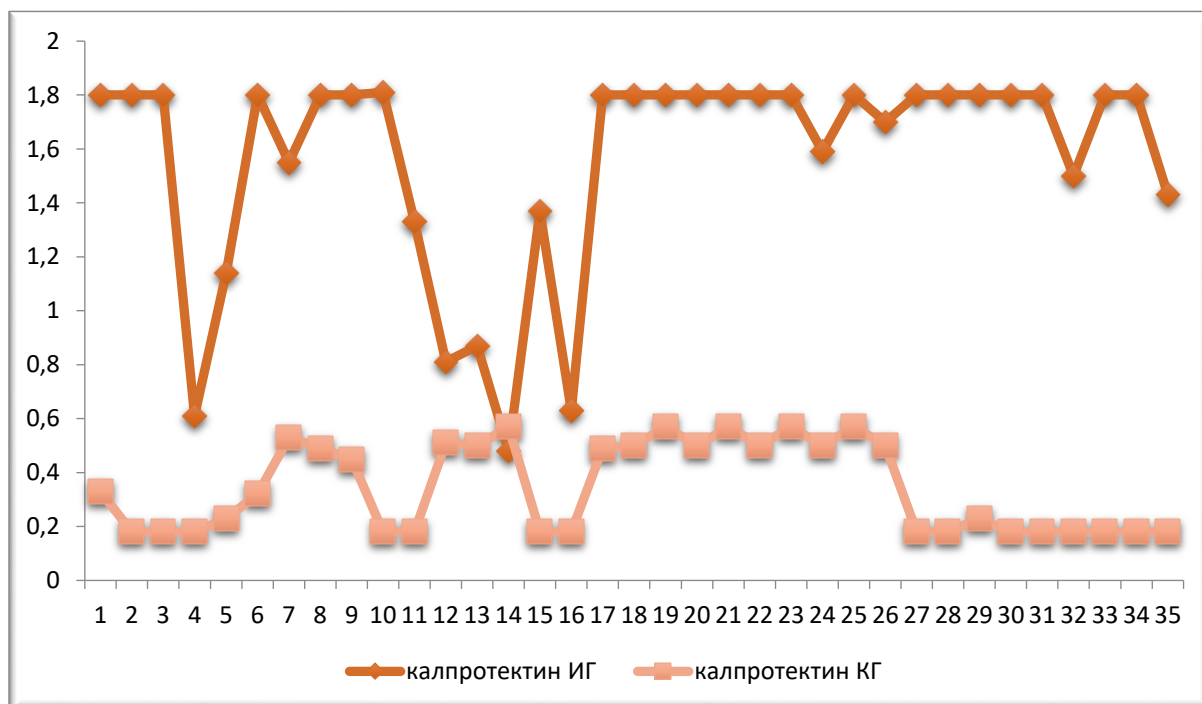
Графикон бр. 96 Приказ на просечните вредности на калпротектин во ИГ пред и по терапија



9в Движење на калпротектин кај пациентите поединечно во ИГ пред и по терапија



## 9г Движење на калпротектин кај пациентите поединечно во ИГ и КГ

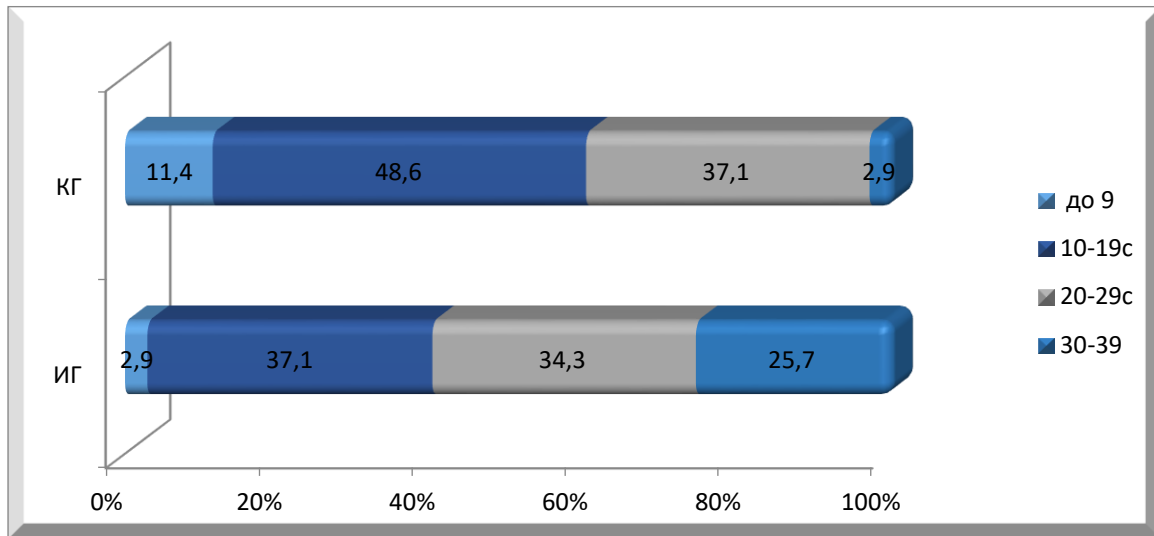


Просечната вредност на MELD-скорот кај ИГ изнесува  $22,6 \pm 8,27$  а во КГ просечната вредност е пониска и изнесува  $17,83 \pm 5,87$ . Според Mann-Whitney U тестот, разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $z = 2,41$ ;  $p = 0,015$ ). Вредност на скорот од 30 до 39 се регистрира кај 25,7 % од пациентите од ИГ, а само кај 2,9 % во КГ, процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0064$ ) (таб. и граф. 10).

Табела бр. 10 Приказ на застапеноста на MELD-скорот во двете групи

MELD скор	ИГ		КГ	
	број	%	број	%
>40	0		0	
30-39	9	25,7	1	2,9
20-29	12	34,3	13	37,1
10-19	13	37,1	17	48,6
<9	1	2,9	4	11,4
вкупно	35	100,0	35	100,0

Графикон бр. 10 Приказ на застапеноста на MELD-скорот во двете групи



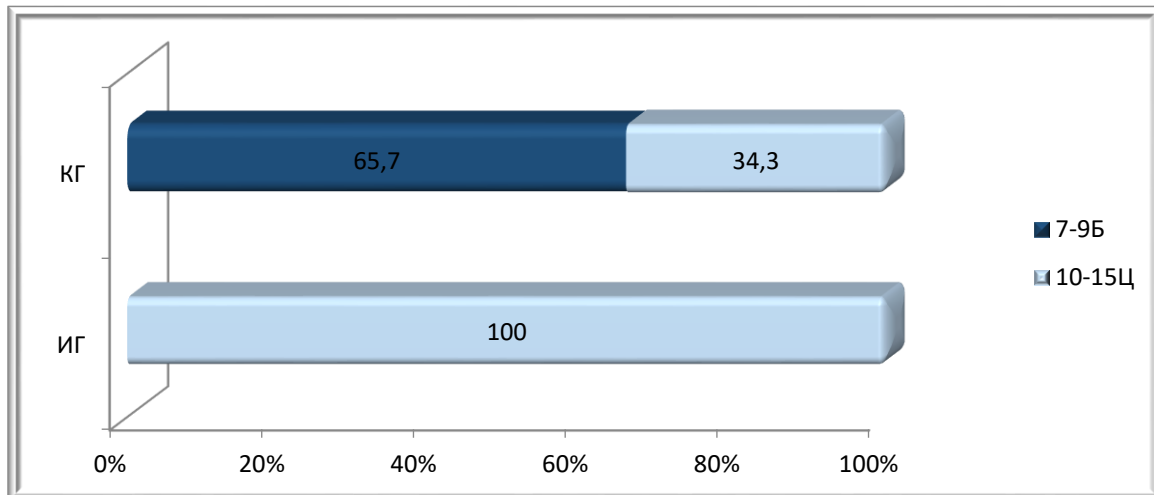
Кај пациентите во испитувана група се регистрира просечна вредност на Child-Pugh скорот од  $13,09 \pm 2,48$  или во поени 100,0 % класа Ц. Кај пациентите во КГ се регистрира просечна вредност на Child-Pugh скорот од  $9,63 \pm 1,62$  или класа Б кај 65,7 % и класа Ц кај 34,3 %. Процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference тест,  $p = 0,000000$ ) (таб. и граф. 11). Според Mann-Whitney U тестот, разликата помеѓу просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $z = -5,44$ ;  $p = 0,00001$ ).

Табела бр. 11 Приказ на застапеноста на Child-Turcotte-Pugh II скорот во двете групи

поени	класа	ИГ		КГ	
		број	%	број	%
5-6	А				
7-9	Б			23	65,7
10-15	Ц	35	100,0	12	34,3



Графикон бр. 11 Приказ на застапеноста на Child-Turcotte-Pugh II скорот во двете групи

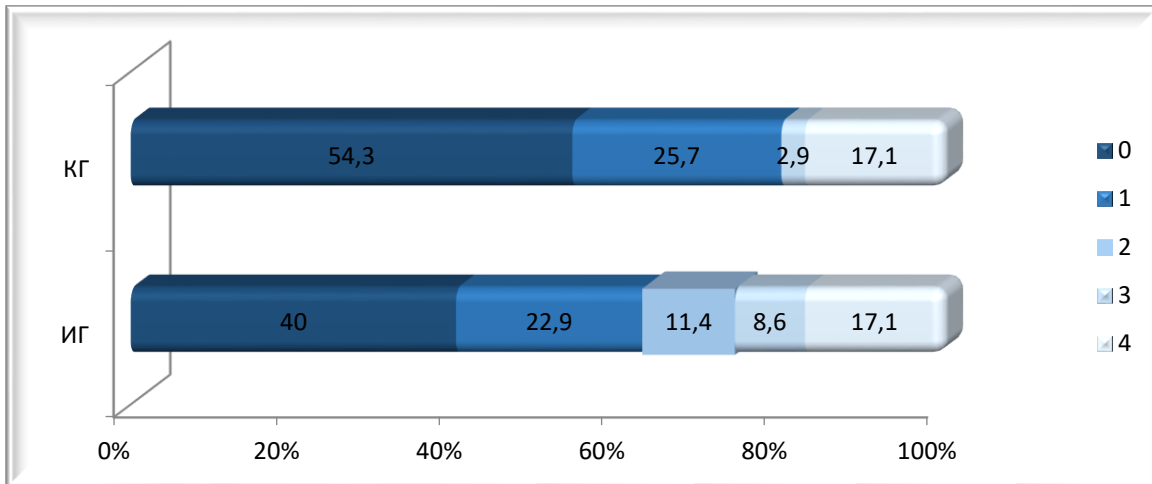


Микробиолошката анализа на асцитната течност кај 33 (94,3 %) пациенти е негативна, само кај двајца пациенти (5,7 %) од ИГ е позитивна и е изолирана *klepsiella pneumonie* и *Echerichia colli*. Вредноста на калпротектинот и кај двајцата пациенти е висока и изнесува 1,8.

Табела бр. 12 Приказ на процентуалната застапеност според West-Haven-овите критериуми за хепатална енцефалопатија (ХЕ)

хепатална енцефалопатија	ИГ		КГ	
	број	%	број	%
0	14	40,0	19	54,3
I	8	22,9	9	25,7
II	4	11,4		
III	3	8,6	1	2,9
IV	6	17,1	6	17,1
вкупно	35	100,0	35	100,0

Графикон бр. 12 Приказ на процентуалната застапеност според West-Haven-овите критериуми за хепатална енцефалопатија (ХЕ)



Според West-Haven-овите критериуми за хепатална енцефалопатија во ИГ кај 40,0 % се регистрира 0, потоа следи I со 22,9%, IV со 17,1%, II со 11,4% и III со 8,6% .

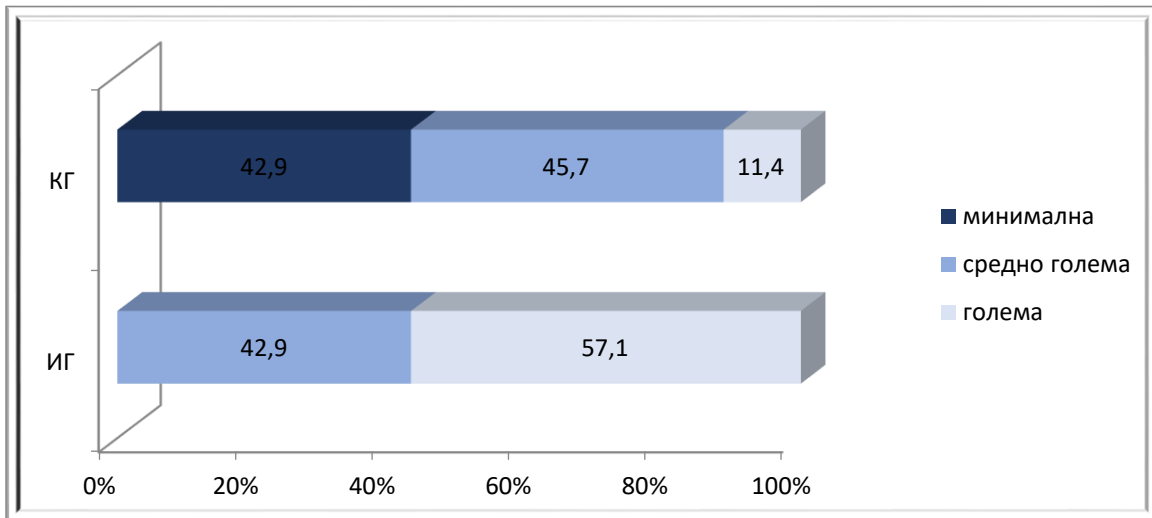
Во КГ кај 54,3 % се регистрира 0, потоа следи I со 25,7 %, IV со 17,1 % и III со 2,9 % .

Процентуалните разлики кои се регистрираат според одделни West-Haven-ови критериуми за хепатална енцефалопатија се статистички несигнификантни за  $p > 0,05$  (таб. и граф. 12).

Табела бр. 13 Приказ на процентуалната застапеност на пациентите во однос на количината на асцит

количина на асцит	ИГ		КГ	
	број	%	број	%
нема асцит	0		0	
минимална количина			15	42,9
средно голем	15	42,9	16	45,7
голема количина	20	57,1	4	11,4
вкупно	35	100,0	35	100,0

Графикон бр. 13 Приказ на процентуалната застапеност на пациентите во однос на количината на асцит од двете групи



Кај пациентите во ИГ се регистрира кај 60,0 % голема количина на асцит, а кај 40,0 % средно голема.

Кај пациентите во КГ се регистрира најголем процент од 45,7 % средно голема количина, потоа со 42,9 % следува минимална количина и 11,4 % голема количина.

Процентуалната разлика помеѓу регистрацијата на голема количина на асцит помеѓу ИГ и КГ е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0000$ ), останатите разлики се несигнификантни (таб. и граф. 13).

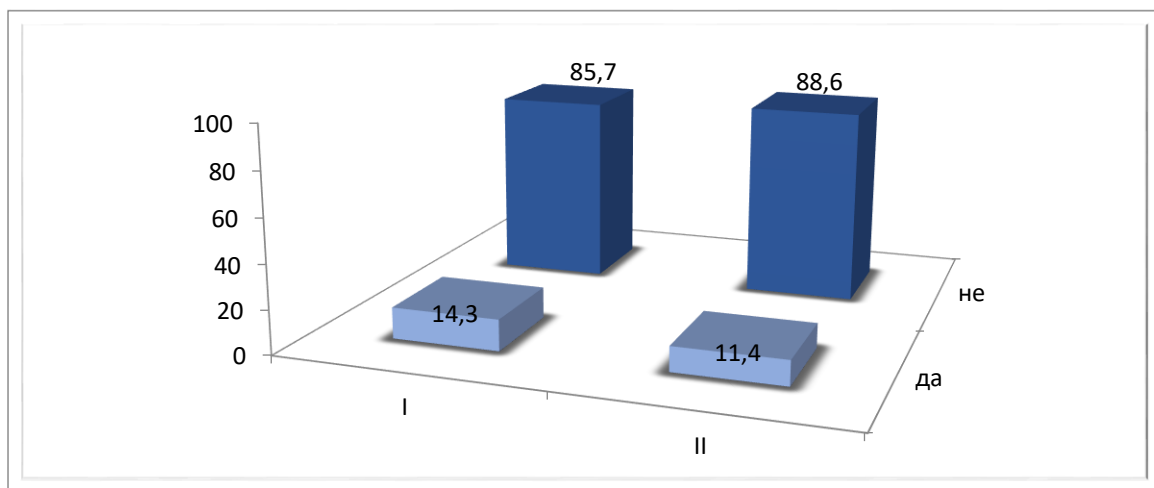
Се регистрира статистички сигнификантна разлика помеѓу количината на асцит во двете групи (Pearson Chi-square: 25,6989,  $p = 0,000003$ ).

Во текот на истражувањето се регистрираше и гастроинтестинално крвавење и во двете групи, во првата група кај 14,3% од пациентите, а во КГ кај 11,4 %, процентуалната разлика е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$ .

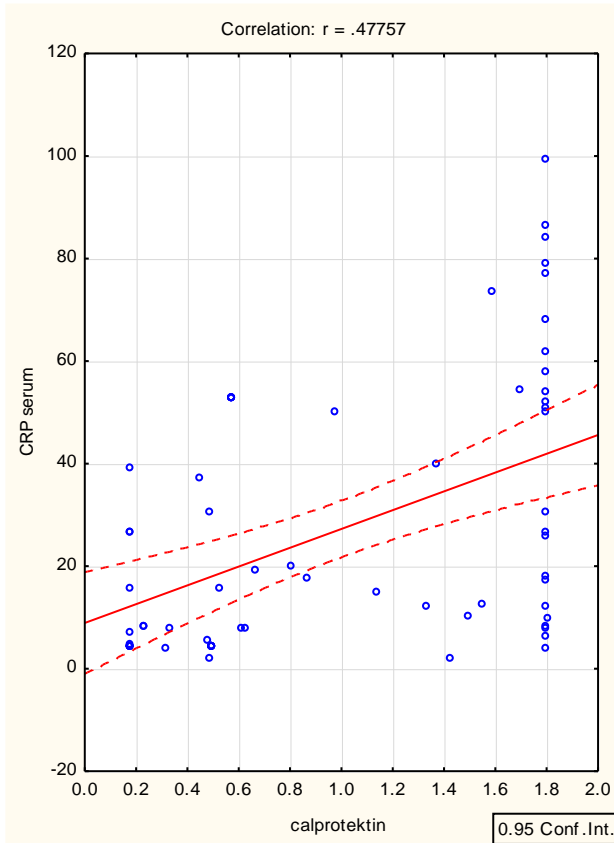
Табела бр. 14 Приказ на процентуалната застапеност на пациентите во однос на гастроинтестинално крвање

група горнодигестивно крвање	I		II	
	број	%	број	%
не	30	85,7	31	88,6
да	5	14,3	4	11,4

Графикон бр. 14 Приказ на процентуалната застапеност на пациентите во однос на гастроинтестинално крвање

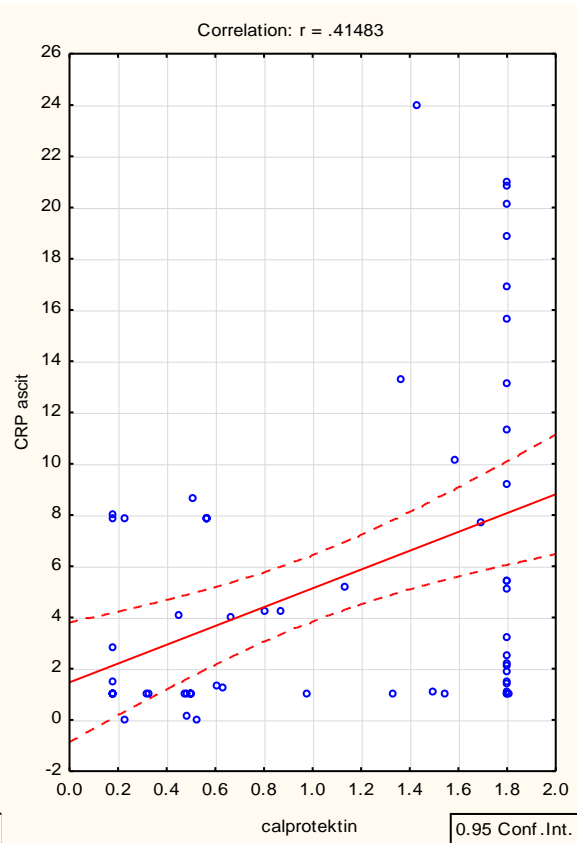


Графикон 15



$r=0,4776$   
 $p=0,000$

Графикон 16



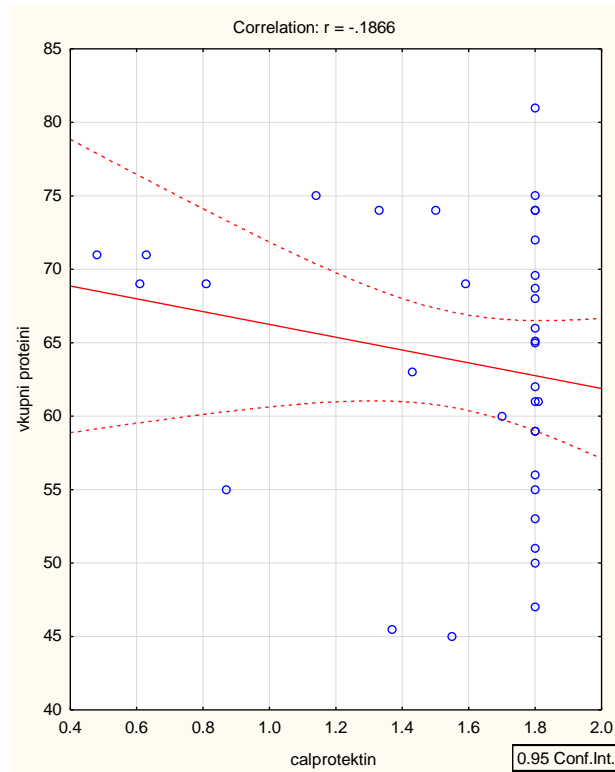
$r=0,4148$   
 $p=0,000$

Во текот на анализата се регистрираше позитивна умерено јака статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и ЦРП во серум (граф. 15) и калпротектинот и ЦРП од асцитната течност (Pearson линеарна корелација) (граф. 16).

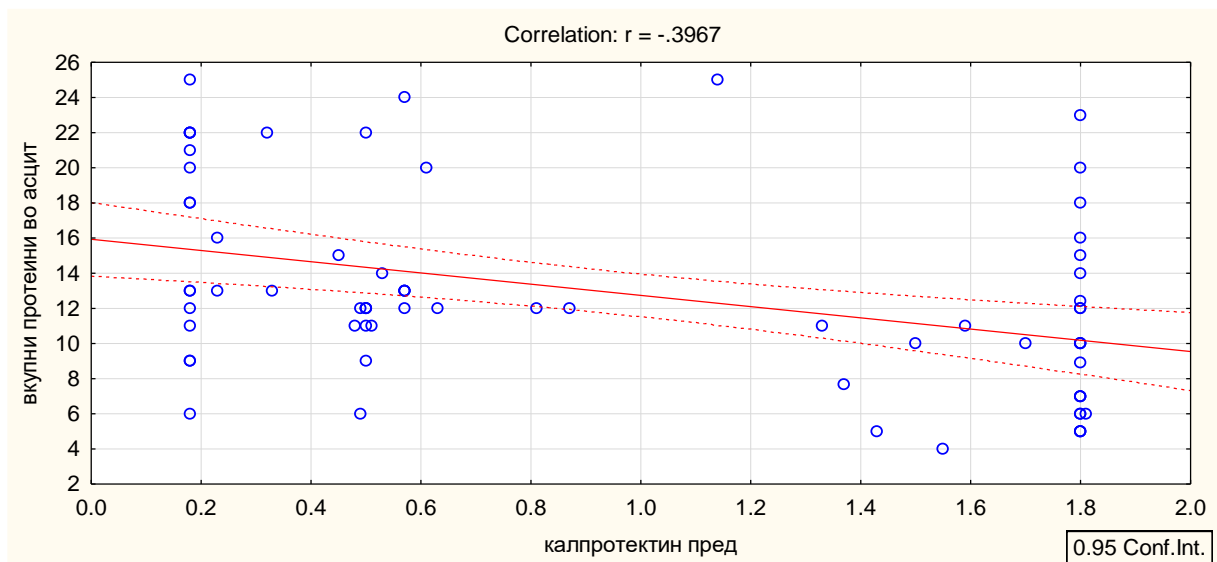
Во текот на анализата се регистрираше негативна умерено слаба статистички несигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и вкупни протеини во серум (граф. 17).

Добиената вредност на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација ( $r$ ) покажува дека ВП во асцит негативно корелираат со калпротектинот, вредноста  $p$  како статистички сигнификантна ја потврдува корелацијата. Корелацијата е негативна, односно индиректна, што означува дека зголемувањето на вкупните протеини во асцит ја намалува вредноста на калпротектин и обратно (граф. 18).

Графикон 17



Графикон 18

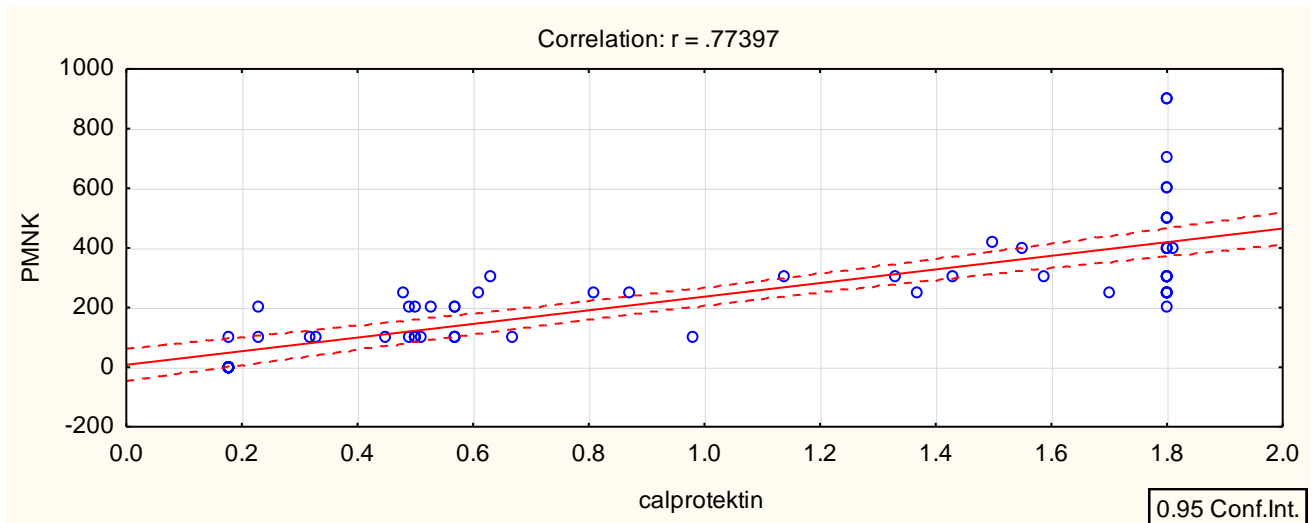


$r = -0,3967$

$p = 0,001$

Во текот на анализата се регистрираше позитивна јака статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и ПМНК пред терапија. (Pearson линеарна корелација) (граф. 19).

Графикон 19

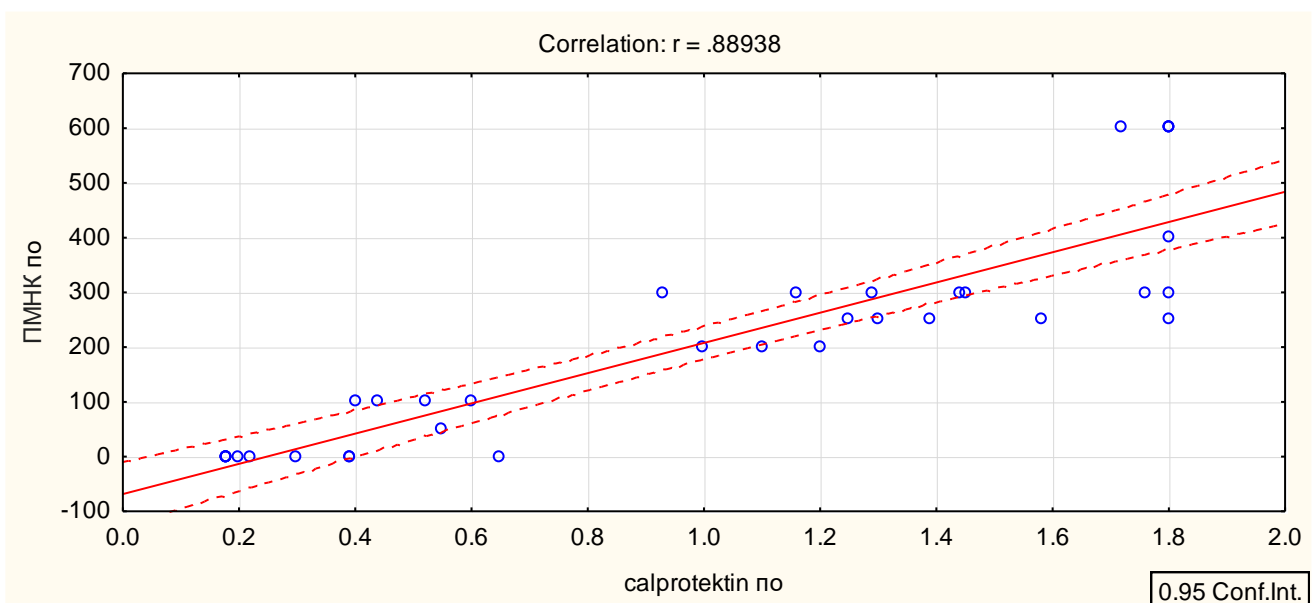


$r = 0,7740$

$p = 0,000$

Добиената вредност на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација ( $r$ ) покажува дека калпротектинот по терапија позитивно корелира со ПМНК по терапија, вредноста  $p$  како статистички сигнификантна ја потврдува корелацијата. Корелацијата е позитивна, односно директна, што означува дека зголемувањето на калпротектин по терапија ја зголемува бројката на ПМНК по терапија, и обратно (граф. 20).

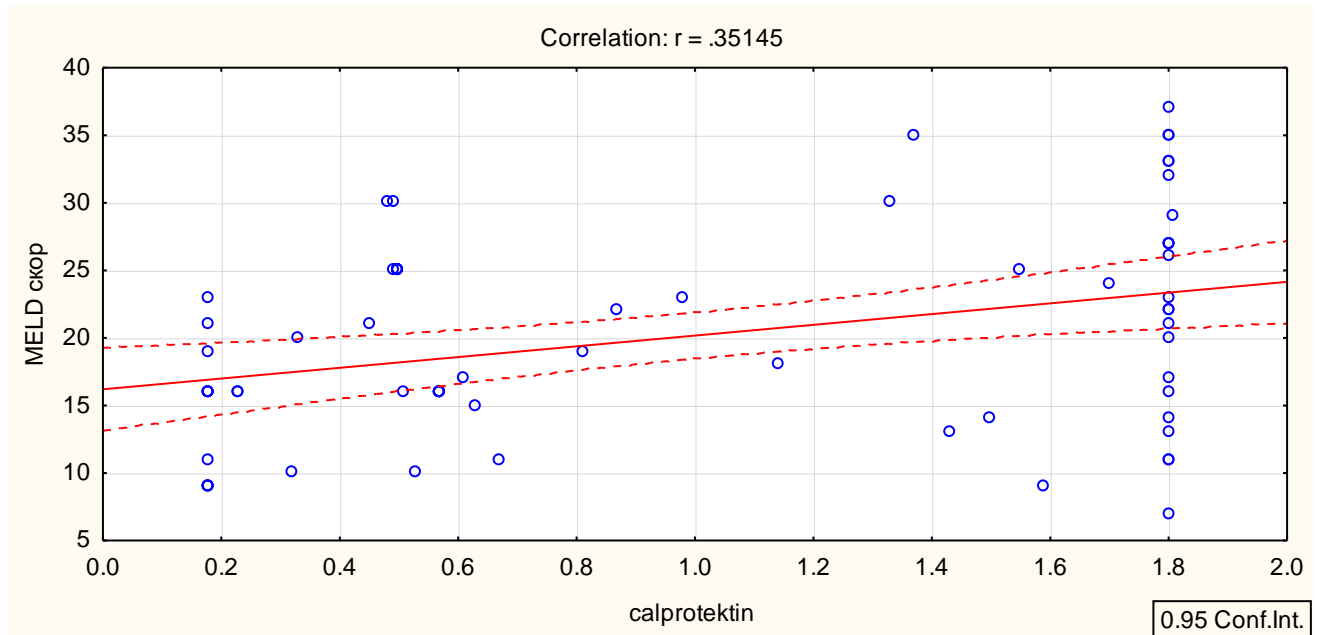
Графикон бр. 20



$r = 0,8894$

$p = 0,000$

Графикон 21

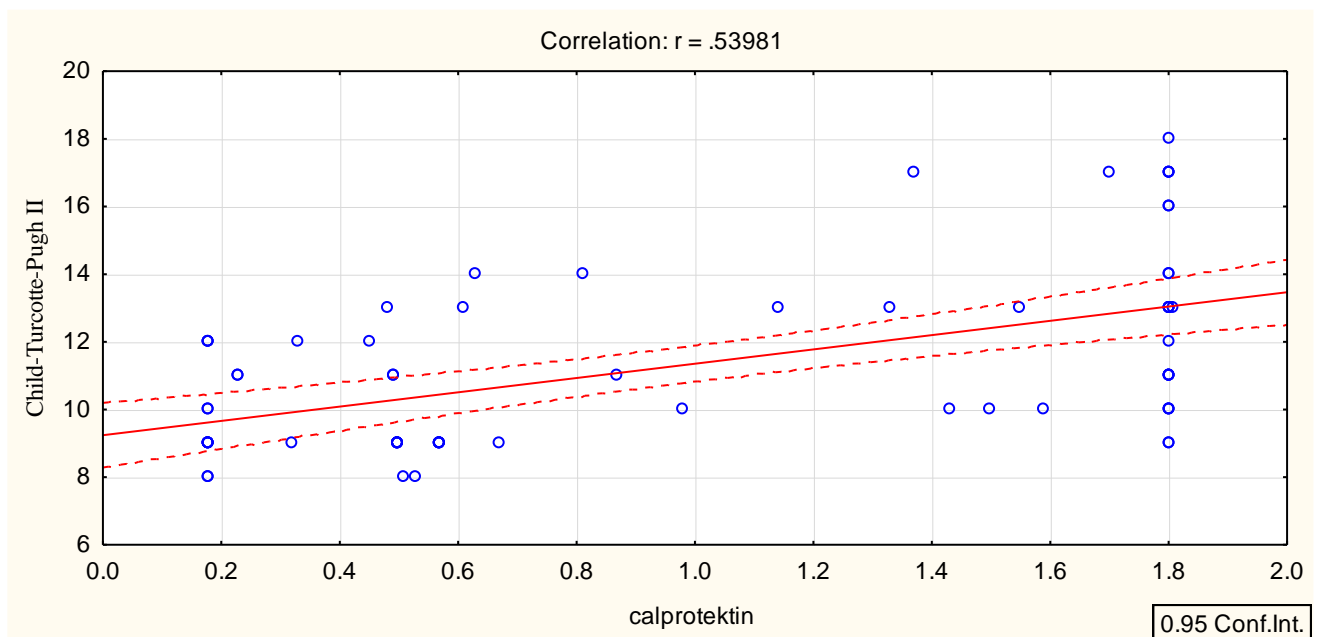


$r=0,3514$

$p=0,003$

Во текот на анализата се регистрираше позитивна умерена статистички сигнификантна корелација (Pearson линеарна корелација) помеѓу калпротектинот и MELD-скорот (граф. 21).

Графикон 22



$r=0,5398$

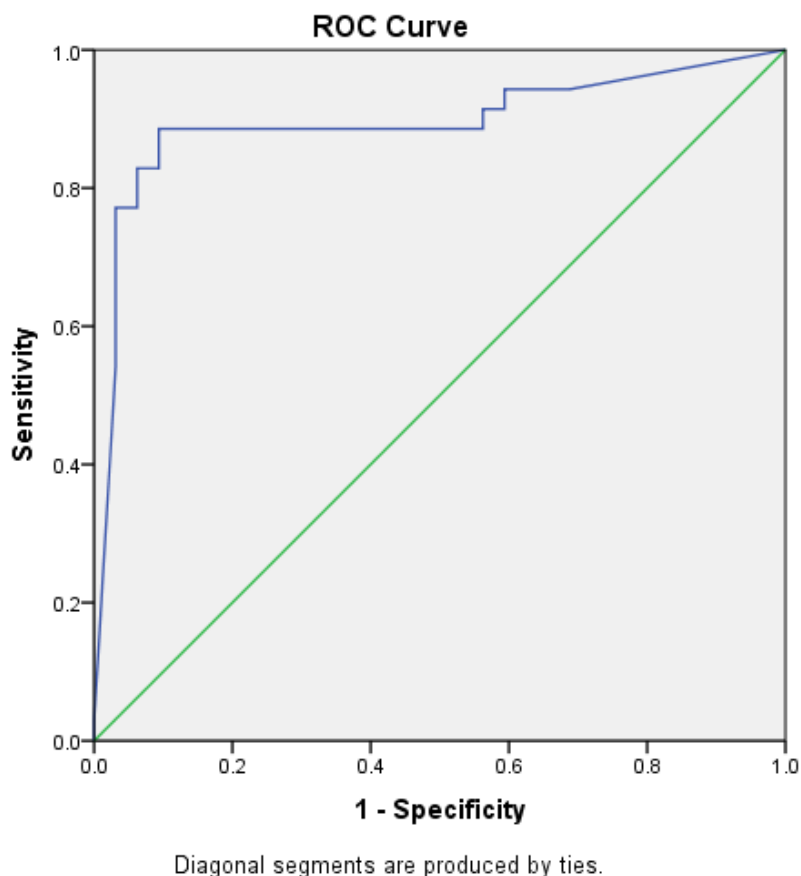
$p=0,000$



Во текот на анализата се регистрираше позитивна умерено јака статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и Child-Turcotte-Pugh II скорот. (Pearson линеарна корелација) (граф. 22).

Во текот на анализата со Spearman Rank Order Correlations (ранг корелација) не се регистрираше корелација ( $R = -0,029571$ ) помеѓу калпротектинот и горнодигестивните крвавења.

Графикон 23 ROC-крива на калпротектинот како предиктор за СБП



Табела бр. 22

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,895	0,044	0,000	0,808	0,981

ROC-анализата укажува дека калпротектинот придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис со 89,5% ( $p = 0,044$ ) (одличен предиктор), поблизу до идеалната вредност од 1,0 и над најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 22).

Според координатите на ROC-кривата за калпротектинот, 94,3 изнесува сензитивноста (правилно да се идентификуваат позитивни), специфичноста е 62,5, што одговара на вредноста 0,275 (cut off вредност) (граф. 22). Сензитивноста на овој параметар како предиктор е 94,3%, а специфичноста е 62,5%.

Табела бр. 23 Мултипна регресиона анализа

калпротектин $R = .79916931$ $R^2 = .63867159$ Adjusted $R^2 = .59720767$ $F(7,61) = 15,403$ $p = 0,00000$						
	b*	Std.Err. - of b*	b	Std.Err. - of b	t(61)	p-value
Intercept			0,079791	0,426469	0,18710	0,852206
ВП/серум	0,059064	0,093560	0,003702	0,005864	0,63130	0,530204
MELD-скор	-0,093177	0,110584	-0,008221	0,009757	-0,84260	0,402747
Child-Turcotte-Pugh II скорот	0,141858	0,117794	0,036531	0,030334	1,20429	0,233129
ВП/асцит	-0,197096	0,128007	-0,019150	0,012437	-1,53974	0,128796
ЦРП /асцит	0,220413	0,159520	0,024889	0,018013	1,38172	0,172097
ЦРП/серум	-0,017799	0,143665	-0,000464	0,003741	-0,12389	0,901806
ПМНК	0,687187	0,114089	0,002326	0,000386	6,02326	0,000000

Мултипната регресиона анализа регистрира поврзаност помеѓу калпротектинот (зависна критериумска варијабла) и системот на променливи варијабли ВП во серум и асцит, ЦРП во серум и асцит, ПМНК, Child-Turcotte-Pugh II скорот, MELD-скор кај пациентите со СБП, при што коефициентот на мултипна регресија ( $R$ ) е 0,799. Коефициентот на детерминација ( $R^2$ ) е 0,64 и означува дека сите независни променливи варијабли заедно влијаат на калпротектинот со 64%, додека 36% се под влијание на други фактори.

Значењето на коефициентот на мултипла регресија тестиран врз основа на F-распределбата покажува дека влијанието на системот на променливите варијабли врз калпротектинот (зависна варијабла) кај оваа група пациенти со спонтан бактериски перитонитис е статистички значајно за  $p = 0,00000$ .

Со анализа на индивидуалните варијабли беше заклучено дека ПМНК имаат значително влијание врз вредностите на калпротектин кај пациенти со спонтан бактериски перитонитис.

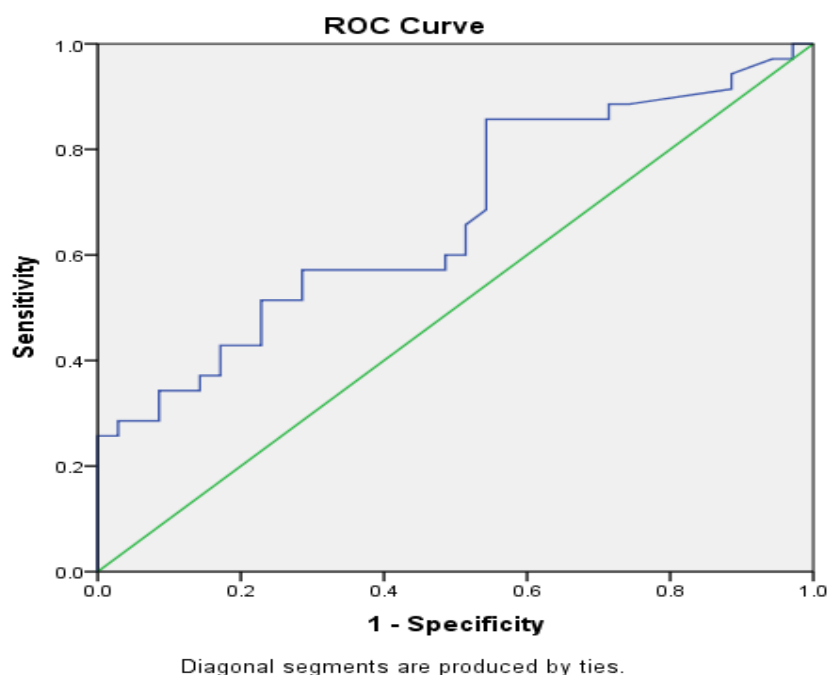
За вредностите на ПМНК, коефициентот на делумна регресија е 0,68, а t-тестот покажа дека ефектот на ПМНК на калпротектинот е статистички значаен за  $p = 0,000000$ .

Доколку ПМНК се зголемуваат за една единица мерка, вредноста на концентрацијата на калпротектинот просечно се зголемува за 0,687187 (b).

Влијанието на другите параметри на вредности не е статистички значајно за оваа група на пациенти (таб. 23)

ROC-анализата укажува дека креатининот придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис со 67,0% ( $p = 0,014$ ) (слаб предиктор), поблизу до најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 24).

Графикон 24 ROC-крива на креатинин како предиктор за СБП



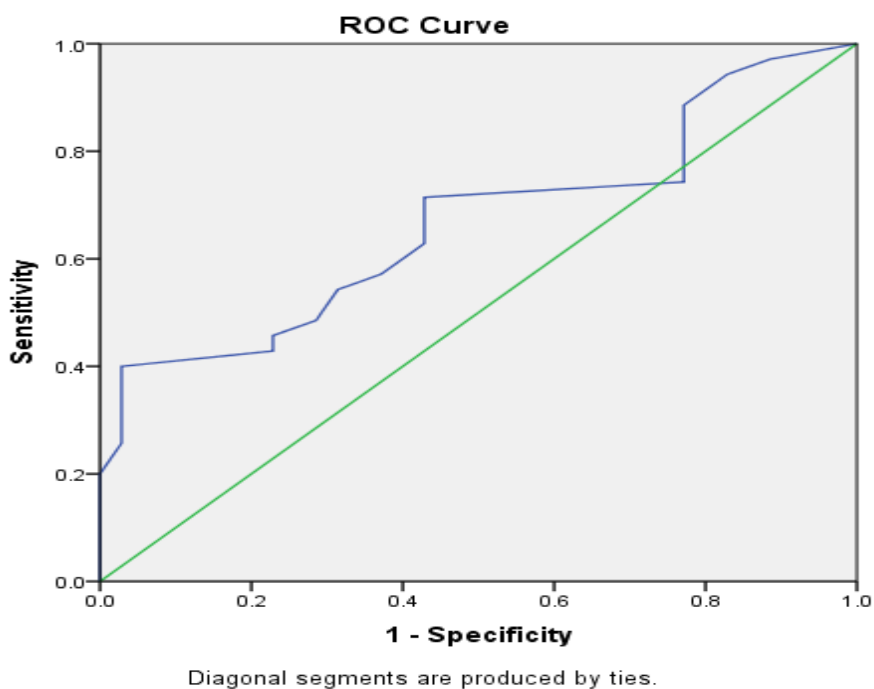
Табела бр. 24

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,670	0,065	0,014	0,543	0,797

ROC-анализата укажува дека MELD-скорот не придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис со 66,7% ( $p = 0,017$ ) (слаб предиктор), поблизу е до најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 25).

Графикон 25 ROC-крива на MELD-скор како предиктор за спонтан бактериски перитонитис



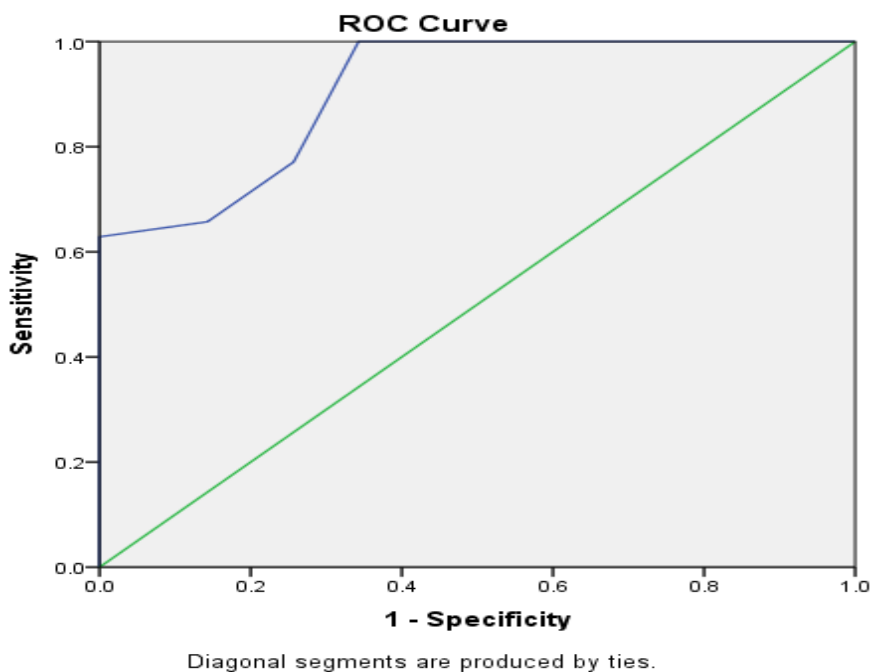
Табела бр. 25

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,667	0,066	0,017	0,538	0,795

ROC-анализата укажува дека Child-Turcotte-Pugh II скор придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис - 90,7% ( $p = 0,000$ ) (одличен предиктор), поблизу до идеалната вредност од 1,0 и над најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 26).

Графикон 26 ROC-крива на Child-Turcotte-Pugh II скор како предиктор за спонтан бактериски перитонитис



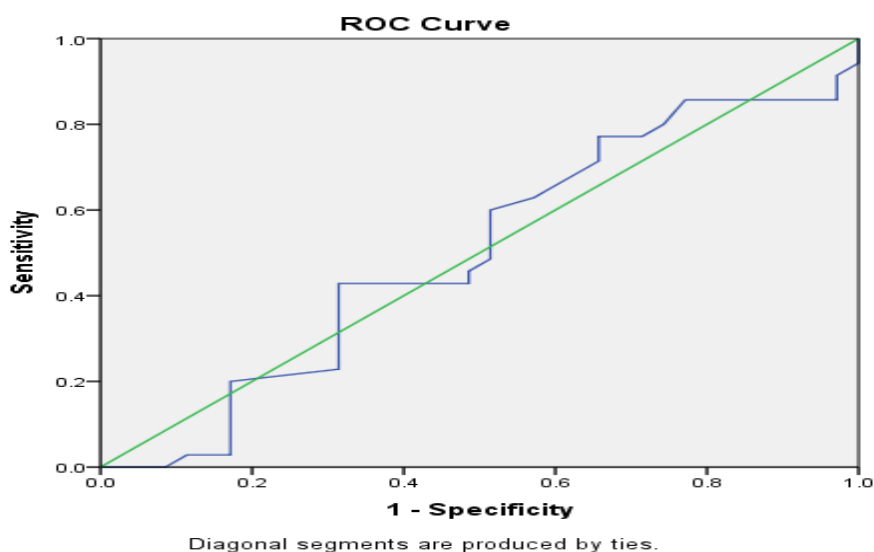
Табела бр. 26

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,907	0,033	0,000	0,841	0,972

ROC-анализата укажува дека ВП во серум не придонесуваат за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис 50,0% ( $p = 0,995$ ) е до најлошата вредност од 0,5. (таб. и граф. 27)

Графикон 27 ROC-крива на ВП во серум како предиктор за спонтан бактериски перитонитис

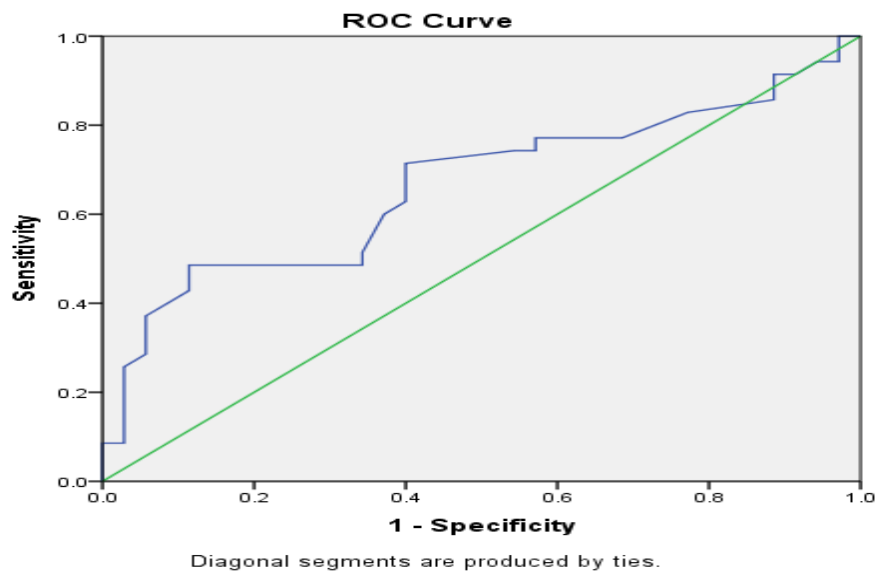


Табела бр. 27

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,500	0,070	0,995	0,363	0,638

Графикон 28 ROC-крива на ИНР како предиктор за спонтан бактериски перитонитис



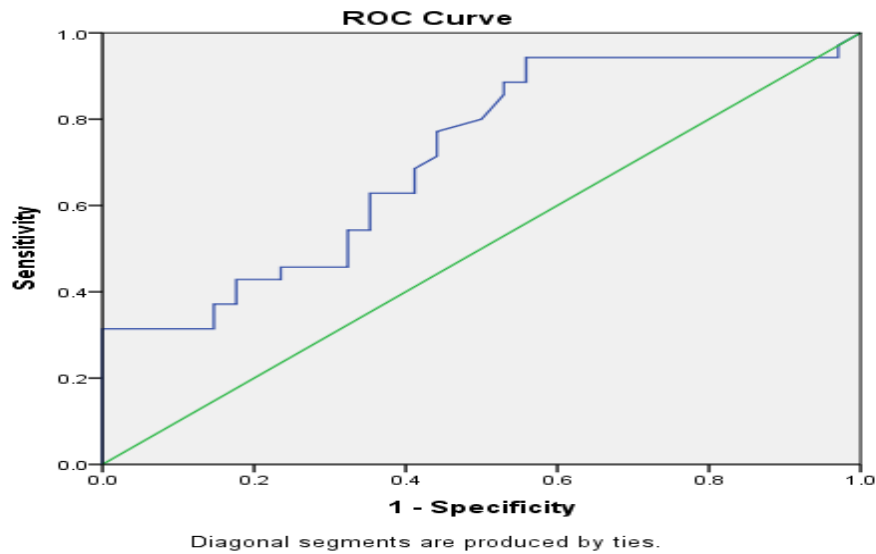
Табела бр. 28

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,664	0,066	0,018	0,534	0,794

ROC-анализата укажува дека ИНР придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис со 66,4% ( $p = 0,018$ ) (слаб предиктор), поблизу е до најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 29).

Графикон 29 ROC-крива на CRP како предиктор за спонтан бактериски перитонитис



Табела бр. 29

Area Under the Curve

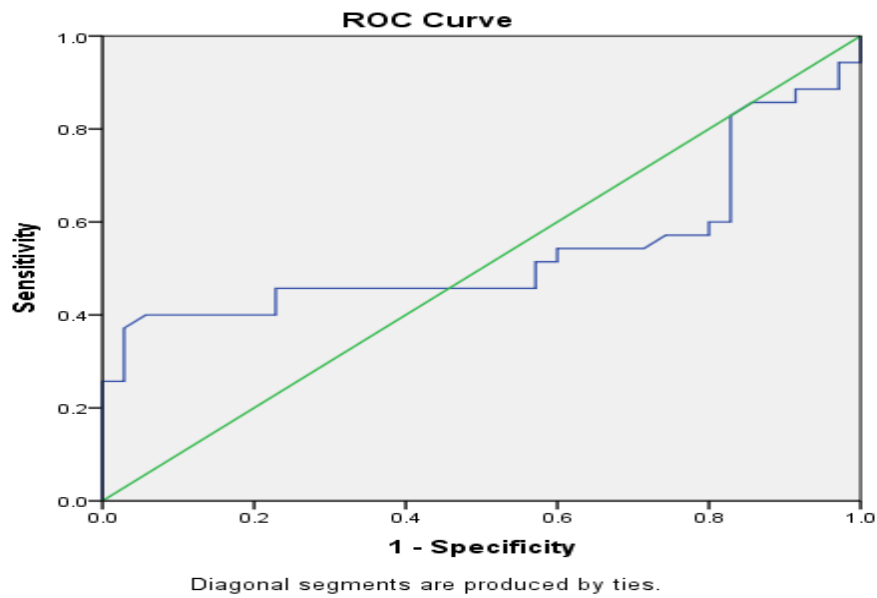
Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,710	0,062	0,003	0,588	0,832

ROC-анализата укажува дека CRP придонесува за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис - 71,0% ( $p = 0,003$ ) (добар предиктор), поблизу до идеалната вредност од 1,0 и над најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 30).

ROC-анализата укажува дека леукоцитите не придонесуваат за дијагностицирање на спонтан бактериски перитонитис - 53,7% ( $p = 0,597$ ) поблизу до најлошата вредност од 0,5 (таб. и граф. 31).



Графикон 30 ROC-крива на леукоцити како предиктор за спонтан бактериски перитонитис



Табела бр. 31

Area Under the Curve

Area	Std. Error <sup>a</sup>	Asymptotic Sig. <sup>b</sup>	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0,537	0,074	0,597	0,391	0,682

Табела бр. 32 Приказ на Униваријантна анализа на некои параметри/ ризик фактори кои влијаат на развојот на СБП

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ИНР>1.2	1,170	0,566	4,276	1	0,039	3,222	1,063	9,768
Constant	-0,323	0,287	1,269	1	0,260	0,724		

а. во однос на: ИНР

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> Ле >9x10 <sup>9</sup> /L	0,889	0,514	2,986	1	0,084	2,433	0,887	6,669
Constant	-.575	0,417	1,907	1	0,167	0,563		

а. во однос на: Ле

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ВП< 62 g/L	0,118	0,486	0,059	1	0,808	1,125	0,434	2,913
Constant	-0,069	0,372	0,034	1	0,853	0,933		

а. во однос на: ВП

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> Албумини < 35 g/L	1,742	0,825	4,466	1	0,035	5,712	1,135	28,748
Constant	-0,238	0,262	0,827	1	0,363	0,788		

а. во однос на: албумини

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ВБ > 20.5 μmol/L	0,470	0,564	0,693	1	0,405	1,600	0,529	4,837
Constant	-0,113	0,275	0,170	1	0,680	0,893		

а. во однос на: ВБ

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> креатини н > 115 μmol/l	1,404	0,562	6,230	1	0,013	4,070	1,352	12,255
Constant	-0,981	0,479	4,198	1	0,040	0,375		

а. во однос на: креатинин

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> Тр < 150 x 10 <sup>9</sup> /L	0,952	0,498	3,659	1	0,056	2,591	0,977	6,872
Constant	-0,405	0,323	1,578	1	0,209	.667		

а. во однос на: Тр

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ЦПП во серум > 6 mg/L	1,991	0,630	9,990	1	0,002	7,319	2,130	25,151
Constant	-0,544	0,296	3,365	1	0,067	0,581		

а. во однос на: ЦПП

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> Ha < 137 mmol/L	0,693	0,486	2,038	1	0,153	2,000	0,772	5,180
Constant	-0,336	0,338	0,991	1	0,320	0,714		

а. во однос на: Ha

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> САГГ < 20 g/L	1.711	.526	10,598	1	0,001	5,537	1,976	15,516
Constant	-0,938	0,393	5,695	1	0,017	0,391		

а. во однос на: СААГ

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ВП во асцит ≤ 10	3.932	1,072	13,461	1	0,000	51,000	6,243	416,649
Constant	-3.045	1,024	8,848	1	0,003	0,048		

а. во однос на: ВП/асцит

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I.for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> ЦРП во асцит > 6 mg/L	1,118	0,514	4,736	1	0,030	3,059	1,117	8,373
Constant	-0,693	0,408	2,883	1	0,090	0,500		

а. во однос на: ЦРП/асцит

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> XE	0,577	0,484	1,423	1	0,233	1,781	0,690	4,599
Constant	-0,272	0,332	0,672	1	0,413	0,762		

а. во однос на: XE

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> голема количина асцит	2,453	0,633	14,996	1	0,000	11,625	3,359	40,236
Constant	-1,658	0,546	9,239	1	0,002	0,190		

а. во однос количина асцит.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 <sup>a</sup> MELD-скор ≥ 20	0,932	0,491	3,594	1	0,058	2,538	0,969	6,650
Constant	-0,480	0,353	1,847	1	0,174	0,619		

а. во однос: MELD-скор

Со униваријантна анализа се покажа дека ИНР, албумин/с, креатинин/с, ЦРП/с, СААГ, ВП/асцит, ЦРП/асцит, големо количество на асцит ( $p=0,039$ ,  $p=0,035$ ,  $p=0,013$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,000$ ,  $p=0,030$ ,  $p=0,000$ ) се независни ризик фактори за развој на СПБ (таб. 32).

ИНР  $>1,2$  сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за три пати ( $\text{Exp}(B)=3,222$  (CI (1,063-9,768)).

Албумини во серум  $<35$  g/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет и пол пати ( $\text{Exp}(B)=5,712$  (CI (1,135-28,748)).

Креатинин/с  $>115$   $\mu\text{mol/L}$  сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за четири пати ( $\text{Exp}(B)=4,070$  (CI (1,352-12,255)).

ЦРП во серум  $>6$  mg/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за седум пати ( $\text{Exp}(B)=7,319$  (CI (2,130-25,151)).

СААГ  $<20$  g/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет пати ( $\text{Exp}(B)=5,337$  (CI (1,976-15,516)).

ВП во асцит  $\leq 10$  сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет пати ( $\text{Exp}(B)=5,337$  (CI (6,243-416,469)).

ЦРП во асцит  $>6$  mg/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за три пати пати ( $\text{Exp}(B)=3,059$  (CI (1,117-8,373)).

Голема количина на асцит сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за единаесет пати ( $\text{Exp}(B)=11,625$  (CI (3,359-40,236)).

Во мултиваријантна логистичка анализа се внесени ризик фактори кои се сигнификантни со униваријантната метода и со кои правиме процена (се предиктори) за СБП.

Со мултиваријантната логистичка анализа се потврди: ИНР  $>1,2$ ; креатинин  $>115$   $\mu\text{mol/L}$ , СААГ  $<20$  g/L и голема количина на асцит се статистички ризик фактори (предиктори) кои ја зголемуваат шансата за СБП (таб. 33).

Табела бр. 33 Приказ на мултиваријантна логистичка анализа на ризик фактори кои влијаат на СБП во однос: ИНР, албумини, креатинин, ЦРП, СААГ и количина на асцит.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
ИНР>1,2	2,284	1,167	3,828	1	0,050	9,812	0,996	96,639
албумин< 35	-0,889	1,636	0,295	1	0,587	0,411	0,017	10,149
креатинин >115	2,937	1,228	5,722	1	0,017	18,851	1,700	209,069
ЦРП>6	1,623	1,322	1,508	1	0,220	5,068	0,380	67,612
Step 1 <sup>a</sup> СААГ<20	2,529	1,022	6,127	1	0,013	12,540	1,693	92,893
ВП/асцит <=10	3,810	1,359	7,856	1	0,005	45,168	3,145	648,639
Голема количина асцит	2,384	1,009	5,578	1	0,018	10,846	1,500	78,413
Constant	-8,935	2,550	12,275	1	0,000	0,000		



## 7. ДИСКУСИЈА

Спонтаниот бактериски перитонитис е животозагрозувачка инфекција на асцитната течност кај пациентите со црнодробна цироза. Се јавува како последица на мултифакторијални дисфункции на имунолошкиот систем и синтетската функција на хепатоцитите (намалена синтеза на протеини, имуноглобулини и компоненти на комплементот), кои заедно со тенкоцревниот хипомоталитет и присутната хипохлорхидрија предиспонираат бактериско размножување, БТ и развој на СБП (42-56). Општо е познато дека пациентите со цироза имаат добра стапка на преживување доколку не се појават компликации. Меѓутоа, штом се појави асцитот и развие СБП, времето на преживување драстично се намалува (8,9,239).

Поради големиот ризик од неповолен исход, идентификувањето на предиспонирачките фактори за СБП е од најголема важност.

Во нашата студија се обработени вкупно 70 пациенти со црнодробна цироза и асцит, со просечна возраст од  $60,9 \pm 10,2$  години. Испитаниците во нашата група се доминантно од машки пол (77,1%), што соодветствува на половата дистрибуција на испитаниците во многу студии (27, 35, 38, 39, 183-187). Тестираната разлика во просечната возраст и половата дистрибуција на испитаниците од двете групи беше несигнификантна и станува збор за хомогени групи во однос на возраста и полот.

Анализата покажа дека СБП е присутен кај повеќе од половината пациенти со алкохолна цироза на црниот дроб (54,3%) во однос на останатите етиологии, со што се потврди и важноста на овој етиолошки фактор како причина за цирозата во нашето опкружување.

Епидемиолошките студии кои го обработија овој проблем, објавија различна застапеност на СБП според етиологијата (186, 187). Така, во студиите на Lata (185) и Thiele (27) се потенцира важноста на алкохолот, како еден од ризик факторите за развој на СБП. Причините за ова авторите ги објаснуваат со фактите дека пациентите со етилна цироза се карактеризираат со чести релапси во користењето на алкохол кое многу тешко може да се контролира, пациентите спаѓаат во групата на социјално тешко загрошена категорија (нередовно користат лекови и имаат неквалитетна исхрана), кои сите заедно може да го дестабилизираат веќе вулнерабилниот и инсуфициентен црн дроб. Од друга страна, мултицентричната студија на Нео и

сорботниците (183) објави поголема застапеност на СБП кај постхепаталната ХБВ-инфекција (71,3%) во споредба со останатите етиологии, алкохолот (19,7%) и цирозата кај ХЦВ-инфекција (6,4%), а овие податоци кореспондираат со високата застапеност на ХБВ-инфекцијата во Азија.

Во нашата студија 90% од пациентите во испитуваната група имаа симптоми и знаци кои јасно укажаа на перитонеална инфекција, особено болки во стомакот (78% vs 20%), иктерус (74% vs 25%), хепатална енцефалопатија III/IV (25,7% vs 20%), голема количина асцит (57,1% vs 11,4%), хипотензија (10% vs 0%) и покачена телесна температура (25% vs 0%). 10 % од пациентите беа асимптоматски.

Според литературата, СБП може да биде и асимптоматски, со застапеност од 3,3%-32% (12, 102, 21, 156, 101, 238, 239).

Пациентите со СБП вообичаено имаат сериозни компликации асоцирани со влошената синтетска и екскреторна функција на хепатоцитите, и имаат потреба за хоспитализација и редовно следење на биохемиските параметри во крвта и коагулациониот статус. Од посебна важност е следењето на бројот на ПМНК во асцитот, вредностите на леукоцитите во периферната крв, Ц-реактивниот протеин (ЦРП), билирубинот, протеините, албумините, трансаминазите, деградационите продукти и електролитите.

Вообичаено, пациентите со црnodробна цироза имаат квалитативни и квантитативни промени на периферните леукоцити (леукопенија) кои се јавуваат во склоп на панцитопенијата, хиперспленизмот и воспалителните процеси (сепса). Меѓутоа, се покажа дека пациентите со СБП вообичаено имаат периферна леукоцитоза, независно од бројот на ПМНК во асцитот. Проспективната студија на Antillon и соработниците (188), ја испитаа асоцираноста на периферната леукоцитоза со број на ПМНК во асцит кај 29 пациенти, и објавија дека нема значајна корелација помеѓу овие две варијабли. Авторот појасни дека пациенти со алкохолна болест на црниот дроб и присутна периферна леукоцитоза ( $29,3 \pm 9,3 \times 10^9/L$ ), покачена телесна температура и болки во стомакот може да имитираат СБП, меѓутоа покачениот број на ПМНК во асцитот кај овие пациенти не се должи на периферната леукоцитоза туку на развојот на СБП. Од друга страна, една пилот-студија од 2011 година, спротивно на претходната, ја нагласи улогата на периферната леукоцитоза во предвидување на СБП кај асимптоматски

пациенти со асцит (184). И во двете студии бројот на испитаници е премногу мал за да се донесе генерален заклучок.

Лабораториските анализи во нашата студија и кај двете групи испитаници не регистрираат сигнификантни разлики во просечните вредности на леукоцитите (Ле) и тромбоцитите (Тр) во периферната крв, ВП во серум, уреата, електролитите во серум, ВБ, АСТ, АЛТ, и АП. Меѓутоа, пациентите со СБП во споредба со не-СБП, имаа повисоки односно пониски просечни вредности кај сите испитувани варијабли, со посебни отстапувања во однос на референтните вредности кај Ле, Тр, АСТ, АЛТ и вкупен билирубин ( $12,2 \pm 16,6 \times 10^9/L$  vs  $7,5 \pm 2,3 \times 10^9/L$ ;  $130,0 \pm 87,9 \times 10^9/L$  vs  $134,5 \pm 73,3 \times 10^9/L$ ;  $117,6 \pm 71,3 U/L$  vs  $96,8 \pm 100,1 U/L$ ;  $71,6 \pm 204,4 U/L$  vs  $57,57 \pm 94,6 U/L$ ;  $92,6 \pm 92,4$  vs  $75,8 \pm 113,0$ ).

Од лабораториските анализи на оваа популација на пациенти во однос на контролната група се забележаа статистички значајно пониски просечни вредности на албумини во серум ( $25,3 \pm 5,5 g/L$  vs  $28,3 \pm 5,3 g/l$ ), повисоки вредности на ИНР ( $1,7 \pm 0,5$  vs  $1,5 \pm 0,2$ ), ПВ ( $18,2 \pm 4,3$  vs  $16,5 \pm 2,3$ ) и креатининот во серум ( $140,3 \pm 104,6$  vs  $79,8 \pm 35,2$ ,  $p < 0,5$ ).

Од прегледот во литературата се виде голема хетерогеност во однос на клиничките и лабораториските карактеристики присутни кај пациентите со СБП, меѓутоа сите студии ја оправдаа индикацијата за дијагностичка парацентеза кај сите пациенти со цироза и асцити пред хоспитализација. Како и да е, и нашата студија, како и другите, идентификуваа неколку варијабли како предвидливи фактори за развој на СБП.

Биохемиските варијабли кои ги корелиравме со бројот на ПМНК, беа оние кои имаа статистичка сигнификантност (албумини во серум, ИНР и креатинин во серум). ROC-анализата укажа дека креатининот во серум и ИНР се слаби предиктори за развој на СБП ( $67,0\%$ ,  $p = 0,014$ ;  $66,4\%$ ,  $p = 0,018$ ), додека униваријантната анализа покажа дека ИНР, албумин /с и креатининот /с се независни ризик фактори за СБП ( $p=0,039$ ;  $p=0,035$ ;  $p=0,013$ ).

Со оглед на тоа што црниот дроб има централна улога во синтезата и разградувањето на факторите на коагулација, компонентите на фибринолитичкиот систем и физиолошките инхибитори на коагулацијата, станува јасно дека следењето на ИНР и ПВ како независни предиктори за развој на СБП е од посебна важност (101, 115, 189, 190).

Неколку студии со помош на мултиваријантни анализи анализираа различни ризик фактори за СБП. Така, студијата на Guarneri и соработниците (191) евалуира 20 варијабли кај 109 пациенти со црнодробна цироза и асцит, и открија дека 5 варијабли имаат позитивна предиктивна вредност за појава на СБП: Child-Pugh скор ( $P = 0,08$ ); развој на енцефалопатија ( $P = 0,06$ ); серумска концентрација на билирубин ( $P = 0,007$ ); број на Тр ( $P = 0,02$ ); и вкупни протеини во асцит ( $P = 0,05$ ). Единствено серумскиот билирубин  $>3,2 \text{ mg /dL}$  и бројот на тромбоцити  $<98,000 / \text{mm}$  се презентираа како независни ризик фактори за развој на прва епизода СБП ( $P < 0,01$  и  $P < 0,05$ ).

Две независни студии објавија слични резултати во однос на факторите кои корелираат со лоша прогноза кај СБП: заморот, ХЕ, леукоцитозата, реналната дисфункција (креатинине  $>2 \text{ mg/dl}$ ), коагулопатијата ( $\text{INR} >2,5$ ) и ниското ниво на протеини во асцит ( $<1 \text{ gm/dl}$ ) ( $p < 0,05$ ) (35, 192).

Студијата на Figueiredo и соработниците (187) обработи 143 пациенти со декомпензирана цироза, од кои 20,3% биле со СБП. Авторите ги идентификува независните предиктори за развој на СБП: серумскиот албумин ( $P < 0,001$ ), С4 во асцитот ( $P < 0,001$ ) и горнодигестивното крвавење ( $P = 0,03$ ) и нагласија дека нивната комбинација може да предвиди СБП до 97%.

За разлика од нашите резултати, студијата на Thiele (27) и соработниците презентира јака позитивна корелација помеѓу ПМНК во асцит со периферните Ле ( $r = 0,501$ ;  $P = 0,001$ ) и негативна корелација помеѓу ПМНК во асцит и ПВ ( $r = -0,385$ ;  $P = 0,011$ ). Слични резултати објави и Syed и соработниците (193). Единствено студиите на Evans (101) и Malinchoc (194) не докажаа значителни разлики во однос на вредностите на серумските албумини, билирубинот или ИНР помеѓу пациенти со и без СБП.

Kim и соработниците (195) ги испитаа серумските концентрации на На и покажаа дека пациентите со СБП имаат пониски вредности на На  $\leq 130 \text{ mmol/l}$  за разлика од не-СБП (33,3% vs 16,3%;  $P = 0,037$ ). Во однос на просечните вредности на На во серум, нашите резултати беа повисоки од објавените на Kim, а тоа најверојатно се должи на разликите во имунолошкиот статус и етиологијата на цироза (постхепатална цироза ХЦВ 60,1%), во споредба со нашата студија (алкохолна цироза 54,3%).

Според препораките на Американската и Европската асоцијација за проучување на болестите на црниот дроб, кај сите пациенти со цироза и асцит при прием во болница треба да се спроведе дијагностичка парацентеза со цел да се исклучи или потврди СБП. Дијагностичка парацентеза, исто така, треба да се изведе и кај пациенти со гастроинтестинално крвање, шок, треска или други знаци на системско воспаление, гастроинтестинални симптоми, како и кај пациенти со влошена функција на црниот дроб и / или бубрезите и хепатална енцефалопатија (1, 6, 21).

Златен стандард за дијагноза на СБП е бројот на ПМНК поголем или еднаков на 250 во 1 mL асцитна течност. Бројето на ПМНК во асцитот може да се одреди на два начина и тоа со хематолошки методи со микроскоп и комора за рачно броење или со автоматски бројач на клетки. Микроскопското броење на клетки трае неколку часови и носи ризик од грешки кои зависат од набљудувачот. Од друга страна, автоматските бројачи на клетки даваат брзи резултати во тек од неколку минути; но и тука може да се појават грешки особено кај асцити со релативно ниско ниво на неутрофили во асцитот, ненавремена биохемиска анализа (од парацентезата, па до добивањето на резултатите може да поминат и повеќе од 4 часа), ноќните смени, викенди и мали болници со ограничени лабораториски капацитети. Исто така за време на транспортот до лабораторијата може да настане дисоцијација на ПМНК и да се добијат лажно негативни резултати. Асцитот кај пациентите со црнодробна цироза содржи и други компоненти кои може да влијаат на резултатот (густи вискозни асцити) (4, 13, 107-114). Така, на пример, кај асцитите со хеморагија која може да се јави во склоп на коагулопатијата или траума при парацентеза, за да се избегнат грешки, предложен е фактор на корекција од 1 за ПМНК на 250 црвени крвни зрнца (EP), бидејќи ова е максимален очекуван сооднос на ПМНК на EP што обично се присутни во периферна крв (197).

Од овие причини, неколку автори предложија и други алтернативни биомаркери за брза дијагноза на СБП (10, 6, 115).

Во последните 20-ина години, сè повеќе се наметнува улогата на калпротектинот како неинвазивен биомаркер за дијагноза на СБП. Идејата потекнува од неговото присуство исклучиво во неутрофилите, што значи дека неговата вредност во телесните течности е пропорционална со приливот на неутрофилите. Меѓутоа, бројот на студии што го

обработуваат овој проблем е мал и покрај ветувачките и охрабрувачки резултати, најверојатно поради релативно скапиот метод.

Раните публикации на Nomann и соработниците (97, 130, 131), ја испитале прогностичката и дијагностичката вредност на калпротектинот во плазмата кај пациентите со СБП. Авторите покажале дека пациентите со алкохолна декомпензирана црнодробна цироза, кои имаат повисоки концентрации на калпротектин во асцитот, се со зголемен ризик на смртност. Истовремено калпротектинот се покажал како добар маркер за предвидување на рецидиви од СБП. Неговата прогностичка вредност била демонстрирана преку мултиваријална анализа која покажала дека калпротектинот има многу поголема прогностичката вредност за СБП за разлика од вредностите на албуминот, ИНР, билирубинот и количината на асцитот, и не зависи од сериозноста на црнодробното заболување.

Три независни студии (132, 134, 135) ја испитале улогата на фекалниот калпротектин (ФК) и неговата асоцираност со компликациите на цироза (ХЕ и СБП). Резултатите и во трите студии покажаа повисоки концентрации на ФК кај пациентите со СБП наспроти контролите ( $P < 0,001$ ), како и позитивна корелација на ФК со ХЕ според West-Haven-овите критериуми ( $p < 0,001$ ).

Burgi и соработниците (133) во 2013 година први ја испитаа корелацијата помеѓу вредностите на калпротектинот во асцит со ПМНК. Во нивната проспективна студија беа анализирани 130 примероци на асцит. Калпротектинот беше измерен во 1 mL асцит со две биохемиски методи: ЕЛИСА и point-of-care (POC) со Quantum Blue® Reader (Bühlmann Laboratories). Резултатите покажаа позитивна корелација помеѓу ПМНК и калпротектинот и за двата теста (Spirman,  $r = 0,457$  за ЕЛИСА,  $r = 0,473$  за POC). Концентрациите на калпротектин детектирани со ЕЛИСА [медијана  $0,43 \mu\text{g} / \text{mL}$ , (IQR)  $0,23-1,23$  (опсег  $0,10-14,93$ )] биле слични со тие на POC [медијана  $0,38 \mu\text{g} / \text{mL}$ , IQR  $0,38-0,56$  (опсег  $0,38-13,31$ )]. Користејќи ја оптималната пресечна вредност за ЕЛИСА ( $0,63 \mu\text{g} / \text{mL}$ ), калпротектинот во асцит имал чувствителност од  $94,8\%$ , специфичност  $89,2\%$ , позитивна и негативна стапка на веројатност од  $8,76$  и  $0,06$ , позитивна и негативна предвидлива вредност од  $60,0\%$  и  $99,0\%$  и вкупна точност  $90,0\%$ , додека користејќи ја оптималната пресечна вредност за POC ( $0,51 \mu\text{g} / \text{mL}$ ), соодветните вредности беа  $100,0\%$ ,  $84,7\%$ ,  $6,53\%$ ,  $0,00\%$ ,  $52,8\%$ ,  $100\%$  и  $87,7\%$ . Авторот заклучи дека калпротектинот во асцит со сигурност може да предвиди ПМНК  $> 250 / \mu\text{L}$ , и може да се користи во дијагнозата на СБП. Истата студија прикажа пониска пресечна вредност

на калпротектин во асцит во споредба со просечната вредност на калпротектин во нашата студија. Меѓутоа, треба да се напомене дека оваа студија беше составена од нехомогени групи (11 пациенти со малиген асцит и 4 пациенти со СБП) и не може да се донесе заклучок дека објавената просечна вредност е реална за дијагноза на СБП. Слични резултати се објавени и во студијата на Abdel-Razik A и соработниците (115), со просечна вредност на калпротектин во асцит од 0,445  $\mu\text{g/ml}$ .

Уште една проспективна студија (139) квантитативно го измери калпротектинот во асцит со помош на РОС со Bühlmann®. Резултатите од студијата презентираа оптимален cut off на калпротектин над 1,57  $\mu\text{g/ml}$  со висока чувствителност (87,8%), специфичност (97,9%) и позитивни (97,3%) и негативни (90,2%) предиктивни вредности за дијагностицирање на СБП.

Поновата проспективна студија на Weil D. и соработниците (198), од 2018 година, ја евалуираше дијагностичката важност на концентрацијата на калпротектин во асцит кај пациенти со СБП, со истата лабораториска метода како и нашата студија. Median levels од студијата беа многу слични на резултатите во нашата студија (СБП 1,81 наспроти не-СБП 0,25  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P < 0,001$ ). Студијата регистрира позитивна корелација помеѓу вредностите на калпротектинот со ПМНК ( $r=0,57$ ;  $P < 0,001$ ) и ЦРП ( $r=0,43$ ;  $P < 0,001$ ), но не и со Child–Pugh и MELD-скорот. Оптималниот праг на калпротектин за дијагноза на СБП беше 1,51  $\mu\text{g/mL}$  (со сензитивност, специфичност и позитивна и негативна предиктивна вредност од 86,1%, 92,0%, 65,9%, и 97,3%

Нашата анализа регистрира позитивна јака статистички сигнификантна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот во асцит и ПМНК. (Pearson линеарна корелација  $r=0,7740$   $p=0,000$ ), а просечна вредност на калпротектинот беше 1,50  $\mu\text{g/ml}$ , и беше во согласност со оние демонстрирани во студијата на Heikl A.A. и соработниците (199). Нивото на калпротектинот во асцитната течност беше во значителна корелација со ПМНК и повисока кај пациенти со СБП ( $P < 0,001$ ), со cut off вредност за СБП од 783  $\text{ng/ml}$ , со чувствителност, специфичност, позитивна предвидлива вредност и негативна предвидлива вредност и точност од 90, 100, 100, 80 и 92,9%. Слични резултати презентираа и студиите на Ali (199) и Fayrouz (200).

Во нашата студија исто така се регистрира статистичка сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на калпротектинот во асцитот кај пациентите со СБП наспроти не-СБП ( $1,5 \pm 0,40$  vs  $0,4 \pm 0,30$ ;  $t\text{-тест}=12,70849$ ;  $p=0,000000$ ).

Со анализа на индивидуалните варијабли се потврди дека ПМНК се значаен предвидлив фактор што влијае на вредностите на калпротектин кај пациенти со СБП. За вредностите на ПМНК, коефициентот на делумна регресија е 0,68, а t-тестот покажа дека ефектот на ПМНК на калпротектинот е статистички значаен за  $p = 0,000000$ . Доколку ПМНК се зголемат за една единица мерка, вредноста на концентрацијата на калпротектинот просечно се зголемува за 0,687187. ROC-анализата укажува дека калпротектинот е одличен предиктор за дијагностицирање на СБП со 89,5% ( $p = 0,044$ ) (одличен предиктор), поблизу до идеалната вредност од 1,0 и над најлошата вредност од 0,5. Според координатите на ROC-кривата за калпротектинот, 94,3 % изнесува сензитивноста (правилно да се идентификуваат позитивни), специфичноста е 62,5 %, што одговара на вредноста 0,275 (cut off вредност). Сензитивноста на овој параметар како предиктор е 94,3%, а специфичноста е 62,5%. Меѓутоа, треба да се напомене дека оваа студија беше составена од нехомогени групи (11 пациенти со малиген асцит и 4 пациенти со СБП) и не може да се донесе заклучок дека објавената просечна вредноста е реална за дијагноза на СБП. Слични резултати се објавени и студијата на Abdel-Razik и соработниците (115) со пониска просечна вредност на калпротектин во асцит од 0,445  $\mu\text{g/ml}$ .

Нашата мултиплина регресиона анализа регистрира поврзаност помеѓу калпротектинот (зависна критериумска варијабла) и систем на променливи варијабли вкупни протеини во серум и асцит, ЦРП во серум и асцит, ПМНК, Child-Turcotte-Pugh II скорот, MELD-скор кај пациентите со СБП, при што коефициентот на мултиплина регресија (R) е 0,799. Коефициентот на детерминација ( $R^2$ ) е 0,64 и означува дека сите независни променливи заедно влијаат на калпротектинот со 64%, додека 36% се под влијание на други фактори.

Значењето на коефициентот на мултиплина регресија тестиран врз основа на F-распределбата покажува дека влијанието на системот на променливите варијабли врз калпротектинот (зависна варијабла) кај оваа група пациенти со СБП е статистички значајно за  $p = 0,00000$ .

И други студии со мултиплина регресиона анализа покажаа позитивна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот во асцит со ПМНК, ЦРП и вкупните протеини во асцитот ( $P < 0,001$ ,  $P = 0,036$  и  $P < 0,001$ ), додека негативна корелација се регистрира со возраста, етиологијата, полот, Child-Pugh и MELD-скорот како и бактериската култура ( $P = 0,84$ ;  $P = 0,41$ ;  $P = 0,10$ ,  $P = 0,86$ ,  $P = 0,49$  и  $P = 0,10$ ) (140, 198, 199, 201).



Во 2020 година беше објавена пилот-студија чија цел беше да направи процена на веројатните фактори кои предвидуваат повторување на СБП кај пациентите кои закрепнале од првата епизода на СБП, вклучуваше пациенти со црнодробна цироза кои не добиле секундарна антибиотска профилакса за СБП. Во студијата беа оценувани вредностите на интерферон-индуцираните протеин (IP-10), калпротектин, ИЛ-6 и ТНФ- $\alpha$ . Мултиваријалната анализа покажа дека IP-10 ( $\geq 1220$  pg / ml), калпротектинот (50550 ng / ml), серумскиот албумин ( $\leq 2,5$  g / dl), неупотребата на  $\beta$ -блокатори и употребата на инхибитор на протонска пумпа (ИПП) се независни варијабли кои може да предвидат повторување на СБП (202).

Истиот автор во неговата ретроспективна кохортна студија, предлага нов неинвазивен скоринг систем (Mansoura) за потврдување или исклучување на СБП кој вклучува 4 варијабли: возраст (најмалку 55), среден Тр волумен MPV (најмалку 8,5 fl), neutrophil-to-lymphocyte ratio NLR (најмалку 2,5) и ЦРП (најмалку 40 mg/l). Системот за бодување е следен: возраст, MPV и NLR се бодираат со по 1 бод, додека ЦРП со 2 бода). На тој начин се постигнува специфичност од 98,2% со позитивна предвидлива вредност за дијагностицирање на СБП од 88,1% (203).

Досегашните студии, ефикасноста и оптималното времетраење на терапијата кај пациентите со СБП го проценуваа според клинички критериуми и преку намалување на бројот на ПМНК во асцитот, вториот ден од терапијата (1, 30, 204, 205).

Меѓутоа, сепак, еден мал број студии укажаа на можни грешки (лажно ниски ПМНК), што резултира со поголема смртност и повисока стапка на повторување на СБП. Исто така постојат докази дека не сите пациенти со СБП имаат подобрување во клиничката слика и покрај намалениот бројот на ПМНК (196, 206-208, 209).

Од тие причини, ние во нашата студија ја одредивме вредноста на калпротектинот во асцитот пред и по терапијата. Според нашите сознанија, нема публикации кои ги одредуваат вредностите на калпротектинот во асцитот пред и по антибиотскиот третман.

Во нашата студија просечната вредност на калпротектинот во асцитот пред антибиотската терапија изнесува  $1,5 \pm 0,4$ , а по антибиотската терапија се регистрира статистичко сигнификантно намалување на вредноста  $1,0 \pm 0,6$  (Wilcoxon Matched Pairs-

тест ,  $T=5,00000$ ,  $Z=4,594930$ ,  $p=0,000004$ ). Добиената вредност на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација ( $r=0,8894$ ,  $p=0,000$ ) покажува дека калпротектинот по терапија позитивно корелира со бројот на ПМНК по терапија, вредноста  $p$  како статистички сигнификантна ја потврдува корелацијата. Корелацијата е позитивна, односно директна, што означува дека зголемувањето на калпротектин по терапија ја зголемува бројката на ПМНК по терапија, и обратно.

Според податоците од литературата, бактериските култури се негативни кај повеќе од 60% од пациентите со СБП (1, 10, 38). СБП во најголем процент (70%), е предизвикан со бактерии од нормалната интестинална флора, главно аеробни грам-негативни бактерии, а речиси половина од случаите се предизвикани од *Escherichia coli* (39).

Анализата на нашата студија покажа низок процент на позитивни бактериски култури на асцитната течност кај ИГ (5,7%). Изолираните бактерии беа *klepsiella pneumonie* и *escherichia colli*. Вредноста на калпротектинот и кај двајцата пациенти беше висока и изнесуваше 1,8.

Нискиот процент на позитивни бактериски култури во асцитот најверојатно се должи на релативно ниската концентрација на бактериите во асцитот за разлика од инфекциите кај други органски течности (на пр. урина). Компаративните испитувања укажаа дека начинот на култивирање на асцитната течност исто така може да влијае на резултатот (16,17,31, 35,40). Имено доколку асцитната течност директно се култивира во шишиња со аеробни и анаеробни медиуми веднаш по дијагностичката парацентеза, се зголемува позитивниот микробиолошки наод до 90%. Како и да е, надвор од овие испитувања, бактериските култури се сè уште негативни кај приближно 30-50% од пациентите со зголемен број на ПМНК во асцит. Состојбата на зголемен број на ПМНК во асцитот и негативна бактериска култура е позната како „култура-негативен неутрофилен асцит“, која се смета за варијанта на СБП (16, 17, 35). Кај значаен дел од пациентите со СБП, хемокултурите се позитивни (3, 16); и во овие случаи бактериите изолирани од периферната крв се веројатно истите бактерии што предизвикуваат СБП. Поновите студии укажаа дека грам-негативните бактерии добиени по пат на центрифугирање на асцитната течност се позитивни во само неколку случаи, веројатно затоа што СБП обично се дијагностицира во многу рани фази на инфекцијата, кога концентрацијата на микроорганизми во асцитот е многу мала (6, 10, 40).

Ниското ниво на серумски албумини може да се смета за очекуван резултат. Тоа се пациенти пред сè со значајно количество на асцит, кој секогаш е поврзан со порталната хипертензија и хипоалбуминемијата. Од друга страна, ако хипоалбуминемијата ја поврземе со инсуфициентната синтетска функција на црниот дроб, јасно е дека покрај намалената синтеза на албумини се намалува синтезата и на имуноглобулини и други молекули на опсонизација во асцитот, одговорни за одбрана од инфекции (210).

Од лабораториските анализи во оваа популациска група пациенти во однос на контролната група се забележа статистички значајно пониско ниво на албумини во серум ( $p=0,023588$ ), додека разликите во просечните вредности на вкупните протеини и глобулините во серум беа статистички незначајни кај двете групи.

Резултати слични на нашите беа презентирани во ретроспективната студија на Huang и соработниците (20). Авторот нагласи дека ниското ниво на албумини во серум може да предвиди повторување на СБП, со чувствителност 70,2% и специфичност 76,3%.

Сеопфатното пребарување на литературата, вклучувајќи ги и резултатите од рандомизирани контролни студии, систематски прегледи, потенцијални ретроспективни студии, покажа дека инциденцијата на СБП е поголема кај пациентите со ВП во асцит  $\leq 11$  g / L отколку кај пациентите со ВП во асцитна течност  $> 11$  g / L, не само за време на хоспитализацијата туку и за време на долгорочното следење (19, 25, 79, 88, 236, 211-217).

И во нашата студија регистриравме сигнификантно пониски просечни вредности на ВП во асцит кај пациентите со СБП  $11,03 \pm 5,27$  вс  $14,74 \pm 5,15$  за разлика од не-СБП.

Chalasan и соработниците (224) забележале дека 27% од пациентите со цироза кои имале ниско ниво на протеини во асцитот и негативна претходна епизода на СБП, развиле СБП додека чекале трансплантација на црн дроб за временски период од 5 месеци, а 62% починале во текот на овој период.

Од друга страна, со униваријантна анализа се покажа дека албумините во серум и ВП во асцит се ризик фактори за развој на СБП (( албумини  $< 35$ g/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет и пол пати:  $\text{Exp}(B)=5,712$  (CI (1,135-28,748) и ВП во асцит  $\leq 10$

сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет пати:  $\text{Exp}(B)=5,337(\text{CI } (6,243-416,469))$ .

Студијата на Llach и соработниците (225) со помош на униваријантна анализа испитаа пет варијабли, статистички сигнификантни како предиктивни фактори за прва епизода СМП ( $p < 0,05$ ), лошиот нутритивен статус, покаченото ниво на билирубин во серум, покаченото ниво на АСТ во серум, продолженото ПТ и намаленото ниво на вкупни протеини во асцит. Кога овие пет варијабли беа воведени во мултиваријална анализа, беше откриено дека само концентрацијата на протеини во асцитната течност е поврзана независно со развојот на СБП ( $p = 0,002$ ). Веројатноста за појава на прв СБП по 3-годишно следење е 24% кај пациентите со вредност на протеини во асцит помала од 11 g / l.

Во согласност со претходните извештаи (115, 137, 198, 199), и нашата анализа според добиената вредност на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација ( $r = -0,3967$ ,  $p = 0,001$ ), покажа дека вкупни протеини во асцит негативно корелираат со калпротектин пред терапија, вредноста  $r$  како статистички сигнификантна ја потврдува корелацијата. Корелацијата е негативна односно индиректна, што означува дека зголемувањето на вкупните протеини во асцит ја намалува вредноста на калпротектин пред терапија, и обратно. Единствено студијата на Ali (200) објави сигнификантна корелација помеѓу вредностите на калпротектин во асцит со нивото на албумин во серум ( $p\text{-value}=0,001$ ,  $\rho=-0,716$ ).

Долги години наназад, анализата на асцитната течност главно се базираше на одредување на вкупната концентрација на протеини и број на ПМНК, демонстрирајќи ја својата корисност во етиолошката дијагностика на асцитите и нивните компликации. Последниве години одредувањето на градиентот помеѓу албуминот во серум и асцит СААГ (англ. Serum Ascites Albumin Gradient), беше прифатено како пофизиолошки пристап за класификација на асцитите, базирана на присуството или отсуството на портална хипертензија. Градиент  $\geq 1,1 \text{ g / dL}$  или  $\geq 11 \text{ g / L}$  значи дека пациентот има портална хипертензија со точност од 97 %. Градиент  $< 1,1 \text{ g / dL}$  или  $< 11 \text{ g / L}$  значи дека пациентот нема портална хипертензија. Од неодамна СААГ е вклучен во препораките за менаџмент на асцитите кај пациентите со цироза од страна на Американската асоцијација за болести на црниот дроб (American Association of the

Study of Liver Disease (AASLD) и Британската асоцијација за гастроентерологија (British Society of Gastroenterology) ( 21-25).

Во нашата студија се регистрира статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на СААГ g/L (ИГ  $19,0 \pm 4,60$  вс  $23,2 \pm 5,50$  во КГ,  $p=0,000992$ ).

Проспективната студија на Albillos и соработниците (26), објави слични просечни вредности на СААГ како нашата студија (стерилен асцит,  $2,05 \pm 0,45$  g/dl; СБП,  $2,13 \pm 0,43$  g/dl). СААГ бил  $<11$  g / L само кај еден пациент од вкупно 242 пациенти со црnodробна цироза и асцит. Авторот смета дека одредувањето на СААГ е покорисен прогностичен фактор за СБП од одредувањето само на вкупните протеини во асцит. Нешто пониски просечни вредности на СААГ се објавени во студијата на пресек од Thiele GB и соработниците (27) ( СБП  $1,3 \pm 0,4$  вс не-СБП  $1,7 \pm 0,6$ ;  $P = 0,045$ ).

Резултатите од студијата покажаа сигнификантна корелација помеѓу ПМНК и СААГ.

Дијагностичката вредност на СААГ во однос на вкупните протеини во асцитот ја објасни Hoefs JC (28) во неговата студија, чија цел беше да се утврди константноста на протеините во серум и асцит и бројот на леукоцити и ПМНК во асцит кај пациентите со некомплицирана црnodробна цироза за време на диуретската терпија. СААГ и ПМНК останаа релативно константни за време на диуретската терапија за разлика од концентрацијата на леукоцитите и протеините во асцитот која се зголеми за  $1,48$  gm% или  $107$  % од почетната вредности. Авторот нагласи дека зголемената концентрација на протеините во серум се јавува како последица на прераспределување на протеините од асцитот во интраваскуларните простори. Од друга страна, зголемената концентрација на протеините во асцитната течност за време на диурезата може да се припише на зголемената концентрација на протеините во серумот во присуство на релативно стабилен СААГ.

Во нашата студија со униваријантна анализа се покажа дека вредноста на СААГ  $< 20$  g/L сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за пет пати ( $\text{Exp}(B)=5,337$  (CI (1,976-15,516)).

Една проспективна студија обработи 120 примероци асцит од 100 пациенти со цироза на црниот дроб и од осум пациенти со малигна перитонеална ефузија како контролна група. И заклучи дека односот на калпротектинот со вкупните протеини во асцит, е

подобар маркер за СБП отколку самиот калпротектин (AUROC = 0,93;  $p < 0,001$ ; чувствителност 93%, специфичност 79%; позитивна предвидлива вредност 60%; негативна предиктивна вредност 97%) ( 137).

Ц-реактивниот протеин, ЦРП ( англ. C-Reactive Protein,CRP) е гликопротеин кој учествува во акутната фаза на воспалението. Под влијание на антиинфламаторните цитокини (интерлеукин-1 (IL-1), тумор-некротичен фактор-алфа (TNF- $\alpha$ ) и интерлеукин-6 (IL-6) доаѓа до пораст на неговата концентрација во крвта во првите 6 часа од почетокот на воспалението, а неговата концентрација се зголемува за 10 - 100 пати во текот на следните 24 - 48 часа.

Долго време се сметаше дека ЦРП се произведува исклучиво од хепатоцитите, но неодамнешните студии сугерираат и други места на производство, вклучително мазните мускулни клетки на коронарните артерии, бубрезите, неврните, алвеоларните макрофаги, масното ткиво и надворешните стимулси (пушење, пиење алкохол и кафе) (226-230).

Неговата улога како независен маркер за откривање на СБП е опишана во неколку студии. Во тој контекст иако првично постоеле сомневања за компетентноста на овој воспалителен маркер кај пациентите со црнодробна инсуфициенција, утврдено е дека синтезата на ЦРП е сочувана дури и во контекст на напредната црнодробна болест.

Поаѓајќи од релативно високата преваленција на СБП кај пациентите со цироза и од лошата прогноза асоцирана со него, постепено се наметна прашањето за прогностичкиот потенцијал на ЦРП како инфламаторни показатели кај оваа група пациенти.

Нашата студија регистрира значително зголемена вредност на ЦРП во серум во ИГ наспроти КГ ( $35,4 \pm 29,51 \text{ mg/L}$  наспроти  $18,6 \pm 18,71 \text{ mg/L}$ ,  $p = 0,006132$ ).

Систематскиот преглед на Pieri G и соработниците (116), ги анализира дијагностичките способности и cut-off вредностите на овој маркер за детекција на инфекции кај пациентите со декомпензирана цироза. Пациентите со понапредната црнодробна цироза за време на бактериските инфекции имаат пониски вредности на ЦРП во крвта, што зависи од степенот на црнодробната дисфункција односно колку е

полоша црнодробната дисфункција толку е пониска неговата вредност во крвта. Од овие причини авторот смета дека ЦРП има слаба предиктивна моќ за откривање на инфекции кај пациентите со црнодробна цироза и од тие причини препорачува да се започне со емпирискиот антибиотски третман дури и во услови на негово умерено зголемување. Сериските мерења на ЦРП може да бидат корисни за да се утврди резолуција или перзистенција на сепса или воспаление, помагајќи им на клиничарите да донесат одлуки при повторна процена на пациенти кои не успеале да се подобрат клинички. Истата студија, во врска со оптималните cut-off вредности на ЦРП за детекција на инфекција, утврди дека има голема нехомогеност во просечните вредности и во различни студии се движи од  $<10 \text{ mg/L}$  до  $> 80,0 \text{ mg/L}$ .

Просечните вредности на ЦРП во студијата на Preto-Zamperlini и соработниците (117) ( $6,5 \pm 0,98 \text{ mg/dl}$  наспроти  $1,14 \pm 8,98 \text{ mg/dl}$ ,  $p=0,001$ ) беа повисоки од резултатите во нашата студија. Авторите предложија cut-off вредност на овој маркер поголем од  $1,0 \text{ mg/dl}$  да се користи како независна варијабла за предвидување на СБП (8).

Слични резултати се објавени и во проспективна студија од 2013 година, чија цел беше да се спореди дијагностичката и предиктивната вредност на Procalcitonin (ПЦТ) и ЦРП со леукоцитите кај пациенти со СБП асоцирани со В постхепатална цироза. Оптималната пресечна вредност на ЦРП беше  $16,15 \text{ mg / L}$  (AUC, 0,86; 95% CI, 0,78-0,94; 64%/ 95% at  $16,15 \text{ mg/L}$ ) за СБП. Авторот заклучи дека серумските PCT и CRP се подобри маркери од леукоцитите за дијагностицирање на пациенти со СБП (231).

Од друга страна, Ahmed Abdel-Razik и соработниците (138) во нивната студија објавија повисоки просечни вредности на ЦРП во серум кај пациентите со СБП наспроти пациентите со не-СБП ( $62,4 \pm 28$  наспроти  $9,81 \pm 8,98$ ,  $p 0,001$ ). Cut-off вредноста на ЦРП во серум од  $30 \text{ mg/dl}$ , има висока специфичност (96%) и сензитивност (90%) за откривање на СБП.

При анализа на предиктивната вредност на ЦРП во серум и асцит за СБП, ROC-анализата укажа дека ЦРП е добар предиктор за СБП со 71,0 % ( $p = 0,003$ ), поблизу до идеалната вредност од 1,0 и над најлошата вредност од 0,5. Со униваријантната логистичка регресиона анализа се покажа дека ЦРП во серум е независен ризик фактор

за СБП, со вредност  $> 6 \text{ mg/L}$  и сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за седум пати ( $\text{Exp}(B)=7,319(\text{CI}(2,130-25,151))$ ).

Неколку други студии укажаа на слаба предиктивна моќ на овој маркер за откривање на СБП. Така, Viallon A. и соработниците (118) во нивната студија направија анализа на неколку протеини од акутната фаза на инфекцијата (прокалцитонин, ЦРП, ТНФ- $\alpha$  и ИЛ-6) кај пациенти со СБП и заклучија дека ЦРП има ниска сензитивност и специфичност 62/92 % за откривање на СБП со cut-off од 80,0 mg/L на ЦРП во серум, наспроти просечните вредности презентирани во нашата студија (11).

Исто така и студијата на Vota и соработниците (232) покажа дека има незначајна статистичка разлика во концентрациите на овој маркер со тежината на болеста пресметана според Child-Pugh скорот. Овој протеин во акутната фаза на инфламација останува покачен дури и во контекст на напредна инсуфициенција на црниот дроб, а неговата вредност го рефлектира степенот на системска инфламација, без оглед на нејзината причина. Капацитетот на ЦРП за дијагностицирање на СБП е помалку релевантен од мерењето на калпротектин во асцит.

Во нашата студија се регистрира значително зголемена вредност на ЦРП во асцитот кај пациентите со СБП ( $7,3 \pm 7,2 \text{ mg/L}$  наспроти  $2,9 \pm 3,11 \text{ mg/L}$ ,  $p=0,001604$ ).

Проспективната студија на Runyon B. A. (119) ги испита дијагностичките вредности на ЦРП во серум и асцит кај пациентите со СБП и не-СБП. Анализата покажа дека вредностите на ЦРП во асцитот и кај двете групи испитаници немаат големи разлики, но вредностите на серумските ЦРП биле значително повисоки кај пациенти со перитонитис отколку кај пациенти со стерилни асцити поврзани со портална хипертензија. Авторот заклучи дека одредувањето на ЦРП во асцит не е корисен показател за инфекција на асцитната течност. Треба да се напомене дека станува збор за студија со мал број на испитаници - 75, од кои 19 со СБП.

Во текот на анализата се регистрираше позитивна умерено јака статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и ЦРП во серум и асцит (Pearson линеарна корелација ( $r=0,4776$  и  $p=0,000$ ;  $r=0,4148$  и  $p=0,000$ )).

Анализата укажува на тоа дека помеѓу ЦРП и калпротектинот постои одредена зависност, но во конкретниот случај веројатно резултатите се во релација со зададената просечна вредност на ЦРП, за која и во литературата постои одредена варијабилност.



Проспективната студија на Weil и соработниците (198) ја испита корелацијата помеѓу вредностите на калпротектинот во асцит и ЦРП во серум кај 119 хоспитализирани пациенти со црнодробна цироза и асцит и заклучи дека постои позитивна корелација помеѓу нив ( $r = 0,43$ ,  $P < 0,001$ ). РОСТ беше лажно негативна само кај еден асимптоматски пациент (нивото на калпротектин беше  $0,45 \mu\text{g} / \text{mL}$ ), но овој пациент имаше високо ниво на серумско ЦРП ( $78 \text{ mg} / \text{L}$ ), што беше силен сигнал во корист на СБП. Четирите други лажни негативни случаи беа „симптоматски“ и кај нив се направи стандардна цитологија за да може дефинитивно да се исклучи СБП. Вреди да се одбележи дека средното ниво на ЦРП ( $62,4 \text{ mg} / \text{L}$ , опсег  $20\text{--}89 \text{ mg} / \text{L}$ ) во лажни негативни случаи не се разликува значително од вистинските позитивни случаи ( $72,5 \text{ mg} / \text{L}$ ), но беше повисоко од вистинските негативни ( $23,7 \text{ mg} / \text{L}$ ;  $P = 0,019$ ) или лажно позитивни ( $37 \text{ mg} / \text{L}$ ;  $P = 0,24$ ) случаи. Ова набљудување мора да не поттикне да се сомневаме во СБП секогаш кога РОСТ е негативен, но поврзан со високо ниво на ЦРП. Овој протеин на акутната фаза на воспалението останува покачен дури и во контекст на напредна инсуфициенција на црниот дроб, а неговата вредност го отвора степенот на системската инфламација, без оглед на нејзината причина, меѓутоа капацитетот на ЦРП за дијагностицирање на СБП беше помалку релевантен од мерењето на калпротектинот во асцит во оваа студија (AUC  $0,83$  наспроти AUC  $0,90$  за калпротектин;  $P = 0,18$ ).

Ретроспективните студии покажаа дека приближно 20% од пациентите со црнодробна цироза со варикозни крвавења развиваат СБП во првите 48 часа по почетокот на крвавењето (89-91). Препораките од гастроинтестиналните здруженија како и големите систематски прегледи, се јасни во однос на профилактичката краткорочна администрација на антибиотик, како стандарден третман кај сите пациенти со цироза кои имаат варикозно крвавење, без оглед на присуството или отсуството на инфекција. Меѓутоа изборот на антибиотиците сепак се заснова на ограничен број студии и со мали примероци (6, 92-94). Покрај тоа, веројатноста за развој на нозокомијална или комунитативна прва епизода на СБП се движи помеѓу 20% и 40% во текот на првата година. Од тие причини сè повеќе се препорачува користење на профилактички антибиотик особено кај пациентите со гастроинтестинални крвавења за време на хоспитализациите и кај преживеаните по првата епизода СБП (218-221). Долгорочната антибиотска профилакса не е потребна кај 70% -80% од пациентите со ниско ниво на вкупни протеини во асцитот, доколку

имаат ниско ниво на серумски билирубин или доволно голем број на тромбоцити (21, 222, 223).

Во текот на нашето истражување не се регистрира сигнификантна разлика во однос на појавата на гастроинтестинални кржавења кај двете групи испитаници (14,3% vs 11,4%,  $p > 0,05$ ), меѓутоа сепак кај пациентите со СБП беа застапени со поголем процент.

Со помош на Spearman Rank Order Correlations (ранг корелација) не се регистрираше корелација ( $R = -0,029571$ ) помеѓу вредноста на калпротектинот и горнодигестивни кржавења.

Нашите резултати го наметнаа прашањето, дали варикозните кржавења се причина или последица на бактериските инфекции? Од една страна, зголемената бактериска транслокација и хиповолемијата која се јавува за време на кржавењето, може да предиспонираат појава на инфекции, а од друга страна, бактериските инфекции преку ослободување на ендотоксини и инсуфициентниот црн дроб кој не може да ги отстрани, можат да резултираат со генерализирано интраваскуларно активирање на медијатори (ендотелини) кои ги оштетуваат крвните садови и го зголемуваат порталниот проток (77, 97-99, 100). Секако, треба дополнителни и поголеми студии да ја објаснат оваа асоцијација.

Проучувањето на прогностичките скорови во предикцијата и прогнозата на поедини компликации кај цирозата, ја потврди нивната улога во клиничката пракса и го поедностави пристапот кон оваа вулнерабилна група пациенти. Thanopoulos и соработниците (38), во нивната студија вниманието го насочија токму на овие клинички наједноставни прогностички проценители. Авторот го поттикна воведувањето на дијагностичката парацентеза во дневно рутинската пракса кај сите пациенти со асцит, со цел рана дијагноза на асимптоматските форми на СБП. Како значајни прогностички фактори за СБП во оваа студија се покажаа: бројот на ПМНК во асцит, нивото на серумскиот билирубин и состојбата на бубрежната функција, а повторувањето на СБП зависи од вредноста на СТР-скорот.

Во нашата студија сите пациенти со СБП беа категоризирани во Ц класа на СТР II скор (100,0%) со средна вредност од  $13,09 \pm 2,40$ , додека кај не-СБП група средната вредност беше  $9,63 \pm 1,26$  (Б скор: 65,7% и Ц скор: 34,3% ( $p = 0,000000$ )). Средните вредности на MELD-скорот кај пациентите со СБП беа  $22,60 \pm 8,27$  наспроти  $17,83 \pm 5,87$  кај пациентите со не-СБП ( $p = 0,0064$ ).

Анализата на резултатите на овој сегмент од нашата судија, може да се базира на предноста на СТР II скорот во однос на MELD-скорот во групата пациенти со СБП. СТР II скорот кој во себе содржи калкулирана количина на асцит и креатинин во серум, се покажа како најдобар предиктор за СБП, за разлика од MELD-скорот кој не се покажа добар предиктор за оваа состојба. Според ROC-анализата, СТР II скор е одличен предиктор за дијагностицирање на СБП 90,7% ( $p = 0,000$ ). Така и нашата студија потврди дека во MELD-скорот се потребни дополнителни податоци за количината на асцитот, за да стане прецизен предиктор за состојбите кои се поврзани со асцитот и последиците од асцитот.

Преваленцијата на СБП е повисока кај пациентите со потешка форма на црнодробна цироза пресметана според СТР-скорот (класа Ц од 50,3% до 100%), презентирани во неколку студии (35, 96, 102, 183, 184).

Во проспективната студија на Hadda (12) беа вклучени 148 асимптоматски пациенти со црнодробна цироза и рефракторен асцит. СБП бил детектиран само кај 23 пациенти (3,3%), со што се потврди ниската преваленција на СБП кај асимптоматските пациенти со црнодробна цироза, истовремено се покажа дека појавата на СБП не е поврзана со сериозноста на црнодробното заболување оценето со MELD-скорот. Пациентите кои се на листа за трансплантација имаат пониска стапка на СБП и имаат значително повисоки вредности на MELD-скорот. Така што развојот на СБП не е поврзан со вредноста на MELD-скорот, туку со клиничкиот статус и рефракторниот асцит и потребата од репетирачка парацентеза. Една од причините за ниската стапка на СБП се објаснува со фактот дека во денешни услови, благодарение на соодветната опрема и човечките ресурси неопходни за правилна и успешна парацентеза, грешките се многу ретки.

Исто така и Zhang и соработниците (237), кои обработија поголема популациска група пациенти, не најдоа ниеден скор кој би бил убедлив во предикцијата на СБП. Студијата само потврди дека пациентите со СБП имаат поголем ризик за смртен исход во споредба со не-СБП.

Во нашата анализа MELD-скорот се покажа како слаб предиктор за дијагностицирање на СБП со 66,7% ( $p = 0,017$ ), меѓутоа неколку други студии ја потенцираа неговата предиктивна вредност. Имено, според нив, со секое зголемување на MELD-скорот се

зголемува и ризикот за СБП. Така, според Obstein K.L. (234), тој ризик се зголемува за 11%, а според Gayatri A. A. (235) за 30,6%. Дел од авторите дури и предложија пациентите со црnodробна цироза и асцит со средна вредност на MELD-скор 20, превентивно да започнат со антибиотски третман (236).

Desai и соработниците (233), истражувањето го насочија кон пронаоѓање на идеален скор, кој би бил предиктивен за перзистентниот СБП. Резултатите покажаа дека MELD-скорот со вредности поголеми од 25 има најголема предиктивна моќ во споредба со останатите прогностички скорови.

Во текот на анализата се регистрираше позитивна умерена статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и MELD-скорот (Pearson линеарна корелација,  $r=0,3514$  и  $p=0,003$ ) и позитивна умерено јака статистички сигнификантна корелација помеѓу калпротектинот и Child-Turcotte-Pugh II скорот (Pearson линеарна корелација  $r=0,5398$  и  $p=0,000$ ). Со ова ние на индиректен начин ја покажавме прогностичката вредност на овој биомаркер, со оглед на тоа што пациентите со потешка форма на цироза пресметана според Child– Pugh и MELD-скорот, имаа и повисоки вредности на калпротектин во асцит. За разлика од нашите резултати, Weil и соработниците (198) објавија дека овие два скор не влијаат на висината на калпротектин во асцитот (Child– Pugh,  $P=0,86$  и MELD-скорот,  $P=0,49$ ).

## 8. ЗАКЛУЧОЦИ

- Просечната вредност на нивото на калпротектин од 1,50  $\mu\text{g} / \text{mL}$  во асцит, со сигурност може да предвиди број на ПМНК  $\geq 250 / \mu\text{L}$ , и може да се користи како алтернатива на другите конвенционални методи за дијагностицирање на СБП, со сензитивност од 94,3 % и специфичноста е 62,5 %.
- Вредноста на калпротектинот по терапија, сигнификантно позитивно корелира со бројот на ПМНК по терапија, што означува дека зголемувањето на вредноста на калпротектинот по терапија е следено со зголемен број ПМНК по терапија, и обратно. Одредувањето на вредноста на калпротектинот во асцитот 7-миот ден од почетокот со антибиотскиот третман има прогностичка вредност на ефикасноста од антибиотскиот третман кај пациентите со СБП.
- Просечната вредност на калпротектинот во асцитот кај пациентите со СБП е сигнификантно повисока наспроти не-СБП.
- Се регистрира позитивна јака статистички сигнификантна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот во асцит и бројот на ПМНК во асцит. Бројот на ПМНК во асцит е значаен предвидлив фактор што влијае на вредностите на калпротектин кај пациенти со СБП. Доколку бројот на ПМНК се зголемат за една единица мерка, вредноста на концентрацијата на калпротектинот просечно се зголемува за 0,687187.
- Вредноста на калпротектинот во асцит 7-миот ден по антибиотската терапија во споредба со првичната вредност, беше статистичко сигнификантно намалена.
- Високи вредности на калпротектин во асцит (1,80  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ), се регистрирани кај двајца пациенти со позитивна бактериска култура во асцит.
- Се регистрира негативна умерено слаба сигнификантна корелација помеѓу вредноста на калпротектинот и вкупните протеини во асцит и серум. Концентрацијата на вкупните протеини, албумини и глобулини во асцит и серум немаат влијание на вредноста на калпротектинот во асцит.
- Анализата утврди и дека Ц-реактивниот протеин во серум и асцит и СААГ позитивно корелираат со вредноста на калпротектинот во асцит.
- Појавата на горнодигестивно крвавење кај пациентите со СБП не влијае на вредноста на калпротектинот во асцит.

- Се регистрира статистички значајна поврзаност помеѓу вредноста на калпротектинот со променливите варијабли (вкупни протеини во серум и асцит, ЦРП во серум и асцит, ПМНК, Child-Turcotte-Pugh II скорот, MELD-скор).
- Умерена позитивна статистички сигнификантна корелација се регистрира помеѓу вредноста на калпротектинот и MELD-скорот. Умерено јака позитивна статистички сигнификантна корелација се регистрира помеѓу вредноста на калпротектинот и СТР II скорот. Пациентите со потешка клиничка слика пресметана според СТР II и MELD-скорот, имаат повисоки вредности на калпротектин во асцит.
- Тестираната разлика во просечната возраст и половата дистрибуција на испитаниците од двете групи беше несигнификантна и станува збор за хомогени групи во однос на возраста и полот.
- СБП е присутен кај повеќе од половината пациенти со алкохолна цироза на црниот дроб во однос на останатите етиологии, со што се потврди важноста на алкохолот како етиолошки фактор за цирозата во нашето опкружување.
- 90% од пациентите во испитуваната група имаа симптоми и знаци кои јасно укажаа на перитонеална инфекција, додека 10 % беа асимптоматски.
- Не беше најдена сигнификантна разлика во просечните вредности на леукоцитите и тромбоцитите во периферната крв, вкупните протеини и глобулини во серум, уреа, електролити во серум, АСТ, АЛТ, и АП меѓу двете групи.
- Статистички сигнификантни разлики се регистрираа во просечните вредности на албумин, билирубин, ИНР, ПВ и креатинин во серум кај пациентите со СБП во однос на не-СБП.
- ИНР, албумин и креатинин во серум се независни ризик фактори за развој на СБП, но слаби предиктори за предвидување на СБП. Ниските вредности на албумин во серум се независни ризик фактори за предвидување на СБП и сигнификантно го зголемуваат ризикот за развој на СБП за пет и пол пати.
- Пациентите со СБП имаат пониски просечни вредности на ВП во асцит за разлика од не-СБП. Ниски вредности на ВП во асцит  $<11 \text{ g/L}$  се независни ризик фактори за развој на СБП и сигнификантно го зголемуваат ризикот за СБП за пет пати. ВП во асцит негативно корелираат со калпротектинот, што означува дека зголемувањето на вкупните протеини во асцит ја намалува вредноста на калпротектинот и обратно.

- Статистички сигнификантна разлика се регистрира помеѓу просечните вредности на СААГ во двете групи. СААГ е добар предиктор, сигнификантно асоциран со појавата на СБП. Вредноста на СААГ  $< 20$  g/L сигнификантно го зголемува ризикот за СБП за пет пати.
- Значително повисоки вредност на Ц-реактивниот протеин во серум и асцитот се регистрира кај пациентите со СБП во однос на не-СБП. ЦРП во серум и асцит е добар предиктор (71,0%) за СБП и сигнификантно асоциран со појавата на СБП. ЦРП во серум ( $> 6$ mg/L) е независен ризик фактор за СБП и сигнификантно ја зголемува шансата за СБП за седум пати.
- Сите пациенти со СБП беа категоризирани во Ц ранг според СТР II скор. Средните вредности на MELD-скорот кај пациентите со СБП беа повисоки во споредба со контролната група. Најдобар предиктор за предвидување на СБП е СТР II скорот (ранг Ц).

## **9. РЕФЕРЕНЦИ**

1. Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. *JHepatol* 2000;32:142-53.
2. Wong CL, Holroyd-Leduc J, Thorpe KE, Straus SE. Does this patient have bacterial peritonitis or portal hypertension? How do I perform a paracentesis and analyze the results? *JAMA* 2008;299:1166-78.
3. Wiest R, Krag A, Gerbes A. Spontaneous bacterial peritonitis: recent guidelines and wider. *Gut* 2012;61: 297-310.
4. Cereto F, Genescà J, Segura R. Validation of automated blood cell for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1400.
5. Dever JB, Sheikh MY. Review article: spontaneous bacterial peritonitis-bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41:1116–1131.
6. European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2018;69(2):406–460 .
7. Conn HO. Spontaneous peritonitis and bacteremia in laennec’s cirrhosis caused by enteric organisms. A relatively common but rarely recognized syndrome. *Ann Intern Med* 1964;60:568-80.
8. D’Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol* 2006;44(1):217–231.
9. Marciano S, et al. Spontaneous bacterial peritonitis in patients with cirrhosis: incidence, outcomes, and treatment strategies. *Hepat Med* 2019; 11: 13–22.
10. Shizuma T. Spontaneous bacterial and fungal peritonitis in patients with liver cirrhosis: a literature review. *World J Hepatol* 2018;10(2):254–266.
11. Piano S, Singh V, Caraceni P, et al. Epidemiology, predictors and outcomes of multi drug resistant (MDR) bacterial infections in patients with cirrhosis across the world. Final results of the “Global study” *Dig Liver Dis* 2018;50(1):2–3.
12. Haddad L, Conte TM, Ducatti L, et al. MELD Score is not related to spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterol Res Pract* 2015;2015:270456.



13. Lutz P, Goeser F, Kaczmarek DJ, et al. Relative ascites polymorphonuclear cell count indicates bacterascites and risk of spontaneous bacterial peritonitis. *Dig Sci* 2017;62:2558–2568.
14. Tsung PC, Ryu SH, Cha IH, et al. Predictive factors that influence the survival rates in liver cirrhosis patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Mol Hepatol* 2013;19:131–139.
15. Kadam N, Acharya S, Shukla S, Gupta K. Ascitic fluid high sensitive C-reactive protein (hs-CRP). A prognostic marker in cirrhosis with spontaneous bacterial peritonitis. *J Clin Diagn Res* 2016;10:OC20–OC24.
16. Schwabl P, Bucsics T, Soucek K, et al. Risk factors for development of spontaneous bacterial peritonitis and subsequent mortality in cirrhotic patients with ascites. *Liver Int* 2015;35:2121–2128.
17. Duah A, Nyaako K. Prevalence and predictors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites admitted at medical block in Korle-Bu Teaching Hospital, Ghana *PAMJ* 2019 ;33:35.
18. Miura K, Tanaka A, Yamamoto T, et al. Proton pump inhibitor use is associated with spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *Intern Med* 2014;53(10):1037–1042.
19. Titó L, Rimola A, Ginès P, Llach J, Arroyo V, Rodés J. Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: frequency and predictive factors. *Hepatology* 1988;8(1):27–31.22.
20. Huang CH, Lin CY, Sheen IS, et al. Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients non-prophylactically treated with norfloxacin: serum albumin as an easy but reliable predictive factor. *Liver Int* 2011;31(2):184–191.67.
21. Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis. *AASLD Practice Guideline*. *Hepatology* 2004; 39:1-16.
22. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006; 55 (Suppl.VI):vi1-12.
23. Runyon BA et al. The serum-ascites albumin gradient is superior to the exudate-transudate concept in the differential diagnosis of ascites. *Ann Intern Med* 1992; 117(3): 215-20.
24. Paré P, Talbot J, Hoefs JC. Serum-ascites albumin concentration gradient: a physiologic approach to the differential diagnosis of ascites. *Gastroenterology* 1983;85(2):240-4.

25. Wilson JA, Suguitan EA, Cassidy WA, et al. Characteristics of ascitic fluid in the alcoholic cirrhotic. *Dig Dis Sci* 1979;24(8):645-8.
26. Albillos A, Curevas-Mons V, Millant I, et al. Ascitic fluid polymorphonuclear cell count and serum to ascites albumin gradient in the diagnosis of bacterial peritonitis. *Gastroenterol* 1990;98:134-140.
27. Thiele GB, da Silva OM, Fayad L. Clinical and laboratorial features of spontaneous bacterial peritonitis in southern Brazil Sao Paulo. *Med. J* 2014;vol.132 no.4
28. Hoefs JC. The mechanism of ascitic fluid protein concentration increase during diuresis in patients with chronic liver disease. *Am J Gastroenterol* 1981;76(5):423-31.
29. Thévenot T, Oberti F, Anty R, et al. Effect of albumin in cirrhotic patients with infection other than spontaneous bacterial peritonitis. A randomized trial. *J Hepatol* 2015; 62(4), 822-830.
30. Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28(1): 26-42.
31. Llovet JM, Planas R, Morillas R, et al. Short-term prognosis of cirrhotics with spontaneous bacterial peritonitis: a multivariate study. *Am J Gastroenterol* 1993;88: 388-392.
32. Terg R, Gadano. A, Cartier M, et al. Serum creatinine and bilirubin predict renal failure and mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis: a retrospective study. *Liver Int* 2009; 29: 415-419.
33. Fernández J, Bauer TM, Navasa M, Rhodes J. Diagnosis, treatment and prevention of spontaneous bacterial peritonitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000; 14(6): 975-90.
34. Fernández J, Gustot T. Management of bacterial infections in cirrhosis. *J Hepatol* 2012;56:S1–S12.
35. Oladimeji AA, Temi AP, Adegunle AE, Taiwo RH, Ayokunle DS. Prevalence of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis with ascites. *Pan Afr Med J* 2013;15:128.
36. Sreenivasulu V, Bheemasenachari M. Study of prevalence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis of liver with ascites. *J Evol Med Dent Sci* 2016;5(44):2720–2724.20.
37. Fiore M, Maraolo AE, Gentile I, et al. Current concepts and future strategies in the antimicrobial therapy of emerging gram-positive spontaneous bacterial peritonitis. *World J Hepatol* 2017;9(30):1166–1175.

38. Thanopoulou AC, Koskinas JS, Hadziyannis SJ. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP): clinical, laboratory, and prognostic features. A single-center experience. *Eur J Intern Med* 2002;13(3):194-8.
39. Piroth L, Pechinot A, Martino VD, et al. Evolving epidemiology and antimicrobial resistance in spontaneous bacterial peritonitis: a two-year observational study. *BMC Infectious Diseases* 2014;14:287
40. Siersema PD, de Marie S, van Zeijl JH, Bac DJ, Wilson JH. Blood culture bottles are superior to lysis-centrifugation tubes for bacteriological diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *J Clin Microbiol* 1992;30(3):667-9.
41. Akriviadis E. Pathophysiology of bacterial infections in liver diseases. *Progress in Hepatology* 1994; 1: 9–18.
42. Berg RD. Mechanisms promoting bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol* 1999; 473: 11-30.
43. Akriviadis E. Pathophysiology of bacterial infections in liver diseases. *Progress in Hepatology* 1994; 1: 9–18.
44. Wiest R, Rath HC. Gastrointestinal disorders of the critically ill. Bacterial translocation in the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17: 397-425.
45. Moore K. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP). *Oxford Textbook of Medicine*, 4th Edition, Oxford University Press 2003, Vol 2, sections 11-17, 739-741.
46. Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation in cirrhosis. *Hepatology* 2005; 41: 422-433.
47. Guarner C, Soriano G. Bacterial translocation and its consequences in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 27-31.
48. Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int* 2013; 33: 31-39.
49. Jalan R, Fernandez J, Wiest R, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *JHepatol* 2014;60(6):1310–1324.
50. Fukui H1, Wiest R. Changes of Intestinal Functions in Liver Cirrhosis. *Inflamm Intest Dis* 2016;1(1):24-40.
51. Jun DW, Kim KT, Lee OY, Chae JD, Son BK, Kim SH, Jo YJ, Park YS. Association between small intestinal bacterial overgrowth and peripheral bacterial DNA in cirrhotic patients. *Dig Dis Sci* 2010;55:1465–1471.

52. Gómez-Hurtado I, Such J, Sanz Y, Francés R. Gut microbiota-related complications in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014;20(42):15624-15631.
53. Chang CS, Chen GH, Lien HC, Yeh HZ. Small intestine dysmotility and bacterial overgrowth in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1998; 28: 1187-1190.
54. Yang CY, Chang CS, Chen GH. Small-intestinal bacterial overgrowth in patients with liver cirrhosis, diagnosed with glucose H<sub>2</sub> or CH<sub>4</sub> breath tests. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 867-871.
55. Guarner C, González-Navajas JM, Sánchez E, et al. The detection of bacterial DNA in blood of rats with CCl<sub>4</sub>- induced cirrhosis with ascites represents episodes of bacterial translocation. *Hepatology* 2006;44(3):633-9.
56. Gasbarrini A, Lauritano EC, Gabrielli M, et al. Small intestinal bacterial overgrowth: diagnosis and treatment. *Dig Dis* 2007; 25: 237-240.
57. Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52: 2044-2052.
58. Hofmann AF, Eckmann L. How bile acids confer gut mucosal protection against bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:4333–4334.
59. Ridlon JM, Alves JM, Hylemon PB, Bajaj JS. Cirrhosis, bile acids and gut microbiota: unraveling a complex relationship. *Gut Microbes* 2013;4:382–387.
60. Bauer TM, Steinbrückner B, Brinkmann FE, et.al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis: prevalence and relation with spontaneous bacterial peritonitis. *HE Am J Gastroenterol* 2001;96(10):2962-7.
61. Guarner C, Runyon BA, Young S, Heck M, Sheikh MY. Intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *J Hepatol* 1997; 26:1372-1378.
62. Guarner C, Runyon BA, Young S, et al. Effect of long term trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis on ascites formation, bacterial translocation, spontaneous bacterial peritonitis and survival in cirrhosis rats. *Dig Dis Sci* 1999; 44:1957-62.
63. Casafont F, De las Heras G, Martín L, et al. Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1995; 40:1252-1256.
64. Llovet JM, Bartoli R, March F, et al. Translocated intestinal bacteria cause spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic rats: molecular epidemiologic evidence. *J Hepatol* 1998; 28:307-313.

65. Soriano G, Guarner C, Teixido M, Such J, Barrios J, Enriquez J, et al. Selective intestinal decontamination prevents spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1991; 100:477-481.
66. Bielefeldt K, Conklin JL. Intestinal motility during hypoxia and reoxygenation in vitro. *Dig Dis Sci* 1997; 42:878-884.
67. Chiva M, Soriano G, Rochat I, et al. Effect of *Lactobacillus johnsonii* La1 and antioxidants on intestinal flora and bacterial translocation in rats with experimental cirrhosis. *J Hepatol* 2002; 37:456-462.
68. Pardo A, Bartoli R, Lorenzo-Zúñiga V, et al. Effect of cisapride on intestinal bacterial overgrowth and bacterial translocation in cirrhosis. *Hepatology* 2000; 31:858-863.
69. Pérez-Páramo M, Muñoz J, Albillos A, et al. Effect of propranolol on the factors promoting bacterial translocation in cirrhotic rats with ascites. *Hepatology* 2000; 31:43-48.
70. Sharma M, Rai K, Sharma SS, Gupta YK. Effect of antioxidants on pyrogallol-induced delay in gastric emptying in rats. *Pharmacology* 2000; 60:90-96.
71. Astaldi G, Strosselli E. Peroral biopsy of the intestinal mucosa in hepatic cirrhosis. *Am J Dig Dis* 1960; 5:603-612.
72. Norman DA, Atkins JM, Seelig LL, et al. Water and electrolyte movement and mucosal morphology in the jejunum of patients with portal hypertension. *Gastroenterology* 1980; 79:707-715.
73. Such J, Guardiola JV, de Juan Joaquin, et al. Ultrastructural characteristics of distal duodenum mucosa in patients with cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14:1-6.
74. Pascual S, Such J, Esteban A, et al. Intestinal permeability is increased in patients with advanced cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2003; 50:1482-1486.
75. Campillo B, Pernet P, Bories PN, et al. Intestinal permeability in liver cirrhosis: relationship with severe septic complications. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:755-759.
76. Bert F, Johnson JR, Ouattara B, et al. Genetic diversity and virulence profiles of *Escherichia coli* isolates cause spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in patients with cirrhosis. *J Clin Microbiological* 2010; 48: 2709-2714.
77. Rimola A, Soto R, Bory F, et al. Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infections and prognosis. *Hepatology* 1984; 4:53-58.

78. Runyon BA. Patients with deficient ascitic fluid opsonic activity are predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1988; 8:632-635.
79. Such J, Guarner C, Enríquez J, et al. Low C3 in cirrhotic ascites predisposes to spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 1988; 6:80-84.
80. Guarner C, Soriano G, Tomás A, et al. Increased serum nitrite and nitrate in patients with cirrhosis of the liver: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 1993, 18:1139-1143.
81. Albillos A, de la Hera A, González M, et al. Increased lipopolysaccharide binding in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology* 2003; 37:208-217.
82. Such J, Francés R, Muñoz C, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and cultura-negative, nonneutrocytic ascites. *Hepatology* 2002; 36: 135-141.
83. Francés R, Benlloch S, Zapater P, et al. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. *Hepatology* 2004; 39:858-863.
84. Francés R, Muñoz C, Zapater P, et al. Bacterial DNA activates cell-mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. *Gut* 2004; 53 (6), 860-4 .
85. Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN et al. Infection, coagulation and variceal bleeding in cirrhosis. *Recent Advances in Clinical Practice. Gut* 2005; 54: 556-563,14.
86. Runyon BA, Hoefs JC. Ascitic fluid analysis in the differentiation of spontaneous bacterial peritonitis from gastrointestinal tract perforation into ascitic fluid. *Hepatology* 1984; 4:447.
87. Runyon BA, Hoefs JC. Ascitic fluid chemical analysis before, during and after spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1985; 5:257.
88. Runyon BA. Low-protein-concentration ascitic fluid is predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1986; 91:1343.
89. Lee YY, Tee HP, Mahadeva S. Role of prophylactic antibiotics in cirrhotic patients with variceal bleeding. *World J Gastroenterol* 2014;20:1790–1796.
90. Brown MR, Jones G, Nash KL, Wright M, Guha IN. Antibiotic prophylaxis in variceal hemorrhage: timing, effectiveness and *Clostridium difficile* rates. *World J Gastroenterol* 2010;16:5317–5323.

91. Blaise M, Pateron D, Trinchet JC, Levacher S, Beaugrand M, Pourriat JL. Systemic antibiotic therapy prevents bacterial infection in cirrhotic patients with gastrointestinal hemorrhage. *Hepatology* 1994;20:34–38.
92. Jalan R, Hayes PC. UK guidelines on the management of variceal haemorrhage in cirrhotic patients. *British Society of Gastroenterology. Gut* 2000;46 Suppl 3-4:III1–III1.
93. Chavez-Tapia NC, Barrientos-Gutierrez T, Tellez-Avila F, Soares-Weiser K, Mendez-Sanchez N, Gluud C, Uribe M. Meta-analysis: antibiotic prophylaxis for cirrhotic patients with upper gastrointestinal bleeding - an updated Cochrane review. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:509–518.
94. Bernard B, Cadranet JF, Valla D, Escolano S, Jarlier V, Opolon P. Prognostic significance of bacterial infection in bleeding cirrhotic patients: a prospective study. *Gastroenterology* 1995;108:1828–1834.
95. European Association for the Study of the Liver: EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010;53:397-417.
96. Coral G, Mattos AA, Damo DF, Viégas AC. Prevalence and prognosis of spontaneous bacterial peritonitis. Experience in patients from a general hospital in Porto Alegre, RS, Brazil (1991-2000). *Arq Gastroenterol* 2002; 39(3):158-62. 1.
97. Homann C, Varming K, Høgåsen K, Mollnes TE, Graudal N, Thomsen AC, Garred P. Acquired C3 deficiency in patients with alcoholic cirrhosis predisposes to infection and increased mortality. *Gut* 1997;40:544–549.
98. Ziegler EJ, McCutchan JA, Fierer J, Glauser MP, Sadoff JC, Douglas H, Braude AI. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 1982;307:1225–1230.
99. Hewett JA, Roth RA. Hepatic and extrahepatic pathobiology of bacterial lipopolysaccharides. *Pharmacol Rev* 1993;45:382–411.
100. Garcia-Tsao G, Escorsell A, Zakko M, et al. Predicting the presence of significant portal hypertension and varices in compensated cirrhotic patients (abstr). *Hepatology* 1997; 26: 360.
101. Evans LT, Kim WR, Poterucha JJ, Kamath PS. Spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic outpatients with cirrhotic ascites. *Hepatology* 2003;37:897–901.
102. Such J, Runyon BA. Spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Infect Dis* 1998;27:669–74.

103. Wong F, Bernardi M, Balk R, et al. Sepsis in cirrhosis: report on the 7th meeting of the International Ascites Club. *Gut* 2005; 54: 718-725.
104. Garcia-Tsao G. Current management of the complications of cirrhosis and portal hypertension: variceal hemorrhage, ascites, and spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 2001; 120: 726-748.
105. Angeloni S, Nicolini G, Merli M, et al. Validation of automated blood cell counter for the determination of polymorphonuclear cell count in the ascitic fluid of cirrhotic patients with or without spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1844–1848.
106. Cereto F, Herranz X, Moreno E, et al. Role of host and bacterial virulence factors in *Escherichia coli* spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 924–929.
107. Reginato TJ, Oliveira MJ, Moreira LC, et al. Characteristics of ascitic fluid from patients with suspected spontaneous bacterial peritonitis in emergency units at a tertiary hospital. *Sao Paulo Med J* 2011;129(5):315-9.
108. Riggio O, Angeloni C, et al. Accuracy of the automated cell counters for management of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14(37): 5689–5694.
109. Riggio O, Angeloni S. Ascitic fluid analysis for diagnosis and monitoring of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15(31): 3845-3850.
110. Hoefs JC "Increase in ascites white blood cell and protein concentrations during diuresis in patients with chronic liver disease." *Hepatology* 1981;1(3):249. PMID 7286905.
111. Gert-Jan M. Marc van Gent, et al. A new flow cytometric method for differential cell counting in ascitic fluid. *Clinical Cytometry* 2016;90B:506–511.
112. Link BC, Ziske CG, Schepke M, et al. Total ascitic fluid leukocyte count for reliable exclusion of spontaneous bacterial peritonitis in patients with ascites. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18(2):181-6.
113. Stassen WN, McCullough AJ, Bacon BR, et al. Immediate diagnostic criteria for bacterial infection of ascitic fluid. Evaluation of ascitic fluid polymorphonuclear leukocyte count, pH, and lactate concentration, alone and in combination. *Gastroenterology* 1986; 90(5 Pt 1):1247-54.
114. Lee HH, et al. Early diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: Values of ascitic fluid variables. *Infection* 1987; volume 15, pages 232–236.



115. Abdel-Razik A, Mousa N, Elhammady D, et al. Ascitic fluid calprotectin and serum procalcitonin as accurate diagnostic markers for spontaneous bacterial peritonitis. *Gut Liver* 2016;10:624–631.
116. Pieri G, Agarwal B and Burroughsa A.K. C-reactive protein and bacterial infection in cirrhosis. *Ann Gastroenterol* 2014; 27(2): 113–120.
117. Preto-Zamperlini M, Farhat SC, Perondi MB, et al. Elevated C-reactive protein and spontaneous bacterial peritonitis in children with chronic liver disease and ascites. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58(1):96-8.
118. Viallon A, Zeni F, Puozet V, et al. Serum and ascitic procalcitonin levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis: diagnostic value and relationship to pro-inflammatory cytokines. *Intensive Care Med* 2000;26:1082-1088.
119. Runyon BA. Ascitic fluid and serum C-reactive protein concentrations in patients with and without peritonitis. *AmJ Clin Pathol* 1986;86:773-775.
120. Koutsounas I, Garyfallia Kaltsa G, Siakavellas S, Bamias G. Markers of bacterial translocation in end-stage liver disease. *World J Hepatol* 2015; 7(20): 2264-2273.
121. Johne B, Fagerhol MK, Lyberg T et al. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol* 1997;50(3):113–123.
122. Korndorfer IP, Brueckner F, Skerra A. The crystal structure of the human (S100A8/S100A9)<sub>2</sub> heterotetramer, calprotectin, illustrates how conformational changes of interacting alpha-helices can determine specific association of two EF-hand proteins. *J Mol Biol* 2007;370(5):887–898.
123. Steinbakk M, Naess-Andresen CF, Lingaas E et al. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *Lancet* 1990;336(8718):763–765.
124. Meijer B, Gearry RB, Day AS. The role of S100A12 as a systemic marker of inflammation. *Int J Inflam* 2012;2012:907078.
125. Kelly SE, Hunter JA, Jones DB, Clark BR, Fleming S. Morphological evidence for calcium-dependent association of calgranulin with the epidermal cytoskeleton in inflammatory dermatoses. *BrJ Dermatol* 1991;124:403-9.
126. Kocher M, Kenny PA, Farram E, Majid KBA, Finlayjones JJ, Geczy CL. Functional chemotactic factors CP-10 and MRP-14 are abundant in murine abscesses. *Infect Immun* 1996;64:1342-50.

127. Zwadlo G, Bruggen J, Gerhards G, Schlegel R, Sorg C. Two calcium-binding proteins associated with specific stages of myeloid cell differentiation are expressed by subsets of macrophages in inflammatory tissues. *Clin Exp Immunol* 1988;72:510-5.
128. Sohnle PG, Collins-Lech C, Wiessner JH. Antimicrobial activity of an abundant calcium-binding protein in the cytoplasm of human neutrophils. *J Infect Dis* 1991;163: 187-92.
129. Kocher M, Kenny PA, Farram E, Majid KBA, et al. Functional chemotactic factors CP-10 and MRP-14 are abundant in murine abscesses. *Infect Immun* 1996;64:1342-50.
130. Homann C, Garred P, Graudal N, et al. Plasma calprotectin: a new prognostic marker of survival in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology* 1995;21: 979-985.
131. Homann C, Christensen E, Schlichting P, et al. Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 415-420.
132. Montalto M, Gallo A, Ferrulli A, et al. Fecal calprotectin concentrations in alcoholic patients: a longitudinal study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 76-80.
133. Burri E, Schulte F, Muser J, Meier R, Beglinger C. Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2028-2036.
134. Gundling F, Schmidtler F, Hapfelmeier A, et al. Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int* 2011; 31: 1406-1415.
135. Alempijević T, Štulić M, Popovic D, et al. The role of fecal calprotectin in assessment of hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Acta Gastroenterol Belg* 2014; 77: 302-305.
136. Abdel-Razik A, Mousa N, Elbaz S, et al. Diagnostic utility of interferon gamma-induced protein 10 kDa in spontaneous bacterial peritonitis: single-center study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27: 1087-1093.
137. Lutz P, Pfarr K, Nischalke HD, Krämer B, et al. The ratio of calprotectin to total protein as a diagnostic and prognostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis and ascites. *CCLM* 2015; Volume 53, Issue 12, Pages 2031–2039.
138. Abdel-Razik A, Eldars W, Rizk E. Platelet indices and inflammatory markers as diagnostic predictors for ascitic fluid infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014;26:1342–1347.
139. Fernandes S.R, Santos P, Fatela N, et al. Ascitic Calprotectin is a Novel and Accurate Marker for Spontaneous Bacterial Peritonitis. *J. Clin Lab. Anal* 2016; 30:1139–1145

140. Heikl AA, El-Nokeety MM, Roshdy E, Mohey A. Ascitic calprotectin as a diagnostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in hepatitis C virus cirrhotic Egyptian patients. *Egypt J Intern Med* 2018;30:1-7.
141. Wiesera A, et al. Evaluating the best empirical antibiotic therapy in patients with acute-on-chronic liver failure and spontaneous bacterial peritonitis. *Digestive and Liver Disease* 2019;1300–1307.
142. Bauer TM, Follo A, Navasa M, et al. Daily norfloxacin is more effective than weekly rifloxacin in prevention of spontaneous bacterial peritonitis recurrence. *Dig Dis Sci* 2002;47:1356-1361.
143. Piano S, Fasolato S, Salinas F, et al. The empirical antibiotic treatment of nosocomial spontaneous bacterial peritonitis: Results of a randomized, controlled clinical trial. *Hepatology* 2016;63:1299–1309.
144. Acevedo J. Multiresistant bacterial infections in liver cirrhosis: Clinical impact and new empirical antibiotic treatment policies. *World J Hepatol* 2015;7:916–921.
145. Piotrowski D, Boroń-Kaczmarek A. Bacterial infections and hepatic encephalopathy in liver cirrhosis-prophylaxis and treatment. *Adv Med Sci* 2017;62:345–356.
146. Fernández J, Tandon P, Mensa J, Garcia-Tsao G. Antibiotic prophylaxis in cirrhosis: Good and bad. *Hepatology* 2016;63:2019–2031.
147. Nadim MK, Durand F, Kellum JA, et al. Management of the critically ill patient with cirrhosis: A multidisciplinary perspective. *J Hepatol.* 2016;64:717–735.
148. Fernández J, Ruiz del Arbol L, Gómez C, et al. Norfloxacin vs ceftriaxone in the prophylaxis of infections in patients with advanced cirrhosis and hemorrhage. *Gastroenterology* 2006;131:1049–1056.
149. de Mattos AA, Costabeber AM, Lionço LC, Tovo CV. Multi-resistant bacteria in spontaneous bacterial peritonitis: a new step in management? *World J Gastroenterol* 2014;20:14079–14086.
150. Sort P, Navasa M, Arroyo V, et al. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999;341:403–409.
151. Poca M, Concepcion M, Casas M, Alvarez-Urturi C, et al. Role of albumin treatment in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:309–315.
152. Fernandez J, Gustot T. Management of bacterial infections in cirrhosis. *J Hepatol* 2012;56(Suppl. 1):S1-S12.

153. Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol* 2014;60: 1310-1324.
154. Fernandez J, Gustot T. Management of bacterial infections in cirrhosis. *J Hepatol* 2012;56(Suppl. 1):S1-S12.
155. Fernandez J, Navasa N, Planas R, et al. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology* 2007;133:818-824.
156. Runyon BA; AASLD Practice Guidelines Committee. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009;49:2087-2107.
157. Gines P, Rimola A, Planas R, Vargas V, Marco F, Almela M, et al. Norfloxacin prevents spontaneous bacterial peritonitis recurrence in cirrhosis: results of a double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatology* 1990;12:716-724.
158. Elfert A, et al. Randomized control trial of rifaximin and norfloxacin in primary and secondary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in cirrhotic patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016;28(12):1450-1454.
159. O'Leary JG, Reddy KR, Wong F, et al; North American Consortium for the Study of End-Stage Liver Disease. Long-term use of antibiotics and proton pump inhibitors predict development of infections in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; doi:10.1016/j.cgh.2014.07.060.
160. Vlachogiannakos J, Viazis N, Vasianopoulou P, Vafiadis I, Karamanolis DG, Ladas SD. Long-term administration of rifaximin improves the prognosis of patients with decompensated alcoholic cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 450-455.
161. Kimer N, Pedersen JS, Tavenier J, et al. Rifaximin has minor effects on bacterial composition, inflammation, and bacterial translocation in cirrhosis: A randomized trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 307-314.
162. Kimer N, Pedersen JS, Busk TM, et al. Rifaximin has no effect on hemodynamics in decompensated cirrhosis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2017; 65: 592-603.
163. Child C, Turcotte J. The liver and portal hypertension. In: Child CI, ed. *Surgery and Portal Hypertension*. Philadelphia, USA: W. B. Saunders, 1964: 50–8.
164. Pugh R, Murray-lyon I, Dawson J. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973; 60: 646–9.

165. Gluud C, Henriksen JH, Nielsen G. Prognostic indicators in alcoholic cirrhotic men. *Hepatology* 1988;8:222-7.
166. Child C, Turcotte J. The liver and portal hypertension. In: Child CI, ed. *Surgery and Portal Hypertension*. Philadelphia, USA: W. B. Saunders, 1964: 50–8.
167. Pugh R, Murray-Lyon I, Dawson J. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973; 60: 646–9.
168. Vorobioff J, Groszmann RJ, Picabea E, et al. Prognostic value of hepatic venous pressure gradient measurements in alcoholic cirrhosis: A 10-year prospective study. *Gastroenterology* 1996;111(3):701-9.
169. Shah DN, Ventura-Cots M, Abraldes JG, et al. Alcohol-related liver disease is rarely detected at early stages compared with liver diseases of other etiologies worldwide. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;17(11):2320-2329.
170. Planas R, Balleste B, Alvarez MA, Rivera M, Montoliu S, Galeras JA, Santos J, Coll S, Morillas RM, Solà R. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004;40:823-30.
171. Shetty K, Rybicki L, Carey WD. The Child-Pugh classification as a prognostic indicator for survival in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1997;25:1049-53.
172. Zeitoun G, Escolano S, Hadengue A, et al. Outcome of Budd-Chiari syndrome: a multivariate analysis of factors related to survival including surgical portosystemic shunting. *Hepatology* 1999;30:84-9.
173. Wiesner RH, McDiarmid SV, Kamath PS, Edwards EB, Malinchoc M, Kremers WK, Krom RA, Kim WR. MELD and PELD: application on survival models to liver allocation. *Liver Transpl.* 2001;7:567-80.
174. Narayan Dharel and Jasmohan S. Bajaj. Definition and Nomenclature of Hepatic Encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5(Suppl 1): S37–S41.
175. Angermayr B, Cejna M, Karnel F, et al. Child-Pugh versus MELD score in predicting survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Gut* 2003; 52:879–85.
176. Samiullah S, Qasim R, Khalid S, Hussain BG, Mukhtair J, Akbar Y. Evaluation of creatininemodified Child-Pugh score for predicting short-term prognosis of patients with decompensated cirrhosis of liver as compare to original Child-Pugh score. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2009;21(2):64-7.

177. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular portosystemic intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000;31:864-71.
- 178.Said A, Williams J, Holden J, Remington P, Gangnon R, Musat A, Lucey MR. Model of endstage liver disease score predicts mortality across a broad spectrum of liver disease. *J Hepatol* 2004;40:897-903.
- 179.Martin AP, Bartels M, Hauss J, Fangmann J. Overview of the MELD score and the UNOS adult liver allocation system. *Transplant Proc* 2007;39:3169-74.
- 180.Ravaioli M, Grazi GL, Ballardini G, et al. Liver transplantation with the Meld system: a prospective study from a single European center. *Am J Transplant* 2006;6:1572-7
- 181.Schepke M, Roth F, Fimmers R, Brensing KA, Sudhop T, Schild HH, Sauerbruch T. Comparison of MELD, Child-Pugh, and Emory model for the prediction of survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunting. *Am J Gastroenterol* 2003;98: 1167-74.
- 182.Wiesner RH, McDiarmid SV, Kamath PS, Edwards EB, Malinchoc M, Kremers WK, Krom RA, Kim WR. MELD and PELD: application on survival models to liver allocation. *Liver Transpl* 2001;7:567-80.
- 183.Heo J, Seo YS, Yim HJ, et al. Clinical features and prognosis of spontaneous bacterial peritonitis in korean patients with liver cirrhosis: a multicenter retrospective study. *Gut Liver* 2009;3(3): 197-204.
- 184.Kasztelan-Szczerbinska B, Slomka M, Celinski K, et al. Prevalence of spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic inpatients with decompensated liver cirrhosis – a pilot study. *Adv Med Sci* 2011;56(1):13-7.
- 185.Lata J, Fejfar T, Krechler T, et al. Spontaneous bacterial peritonitis in the Czech Republic: prevalence and aetiology. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15(7):739-43.
- 186.Heidelbaugh JJ, Bruderly M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation. *Am Fam Physician* 2006;74(5):756-62.
- 187.Figueiredo FAF, Coelho HSM, Soares JAS. Spontaneous bacterial peritonitis in hepatic cirrhosis: prevalence, predictive factors and prognosis. *Rev Assoc Med Bras* 1999;45(2):128-36.
- 188.Antillon MR, Runyon BA. Effect of marked peripheral leukocytosis on the leukocyte count in ascites. *Arch Intern Med* 1991;151:509–510.

189. Leise MD, Kim WR, Kremers WK, Larson JJ, Benson JT, Therneau TM. A revised model for end-stage liver disease optimizes prediction of mortality among patients awaiting liver transplantation. *Gastroenterology* 2011;140:1952-60.
190. Ajitpal SG, Amandeep S, Prithpal SM, et al. Spontaneous bacterial peritonitis in alcoholic cirrhosis: An Indian perspective. *Euroasian journal of Gastroenterology* 2012; (1): 14-19.
191. Guarneri C, Sola R, Soriano G, *et al.* Risk of a first community-acquired spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotics with low ascitic fluid protein levels. *Gastroenterology* 1999; 117(2): 414-19.
192. Filik L, Unal S. Clinical and laboratory features of spontaneous bacterial peritonitis. *East Afr Med J* 2004;81:474-79.
193. Syed VA, Ansari JA, Karki P, Regmi M, Khanal B. Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in cirrhotic ascites: A prospective study in a tertiary care hospital, Nepal. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2007;5(1):48-59.
194. Malinchoc M, Gines P, Navasa M, et al. The model for end-stage liver disease (MELD) score predicts survival in patients with spontaneous bacterial peritonitis, and with ascites. *Gastroenterology* 2001;120:A378.
195. Kim JH, Lee JS, Lee SH, et al. The association between the serum sodium level and the severity of complications in liver cirrhosis. *Korean J Intern Med.* 2009;24(2):106-12.
196. Angeloni S., Leboffe C., Parente A., Venditti M., Giordano A., Merli M., et al. Efficacy of current guidelines for the treatment of spontaneous bacterial peritonitis in the clinical practice. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2757–2762.
197. Stassen WN, McCullough AJ, Bacon BR, et al. Immediate diagnostic criteria for bacterial infection of ascitic fluid. Evaluation of ascitic fluid polymorphonuclear leukocyte count, pH, and lactate concentration, alone and in combination. *Gastroenterology* 1986; 90(5 Pt 1):1247-54.
198. Weil D, Heurgue-Berlot A, Monnet E et al. Accuracy of calprotectin using the Quantum Blue Reader for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology Research* 2018 doi: 10.1111/hepr.13239.
199. Fayrouz O. Selima, Nahawand A. El-Deeba, et al. Assessment of calprotectin in ascitic fluid as a marker for spontaneous bacterial peritonitis diagnosis in cirrhotic patients. *ELM* 2018. Volume : 30. Issue : 4;Page : 223-230.

200. Ali A G, Ahmed NS, Hasan SM. Calprotectin measurement in ascitic fluid: A new test for the rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Med. J. Cairo Univ* 2013; 81(2): 53-56.
201. Rahman A et al. Ascitic calprotectin as a useful marker in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in adults. *Egyptian Liver J* 2020; 10:14.
202. Abdel-Razik A, et al. Recurrence of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: novel predictors. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2020; Volume 32 - Issue 6 - p 718-726.
203. Abdel-Razik A, et al. Mansoura simple scoring system for prediction of spontaneous bacterial peritonitis: lesson learnt. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 2019; Volume 31 - Issue 8 - p 1017-1024.
204. Caruntu F.A., Benea L. Spontaneous bacterial peritonitis: pathogenesis, diagnosis, treatment. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 51–56.
205. Runyon B.A. Low-protein-concentration ascitic fluid is predisposed to spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1986; 91: 1343–1346.
206. Castellote J, Girbau A, Ariza X, et al. Usefulness of reagent strips for checking cure in spontaneous bacterial peritonitis after short-course treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 125–30.
207. Fong T.L, Akriviadis E.A, Runyon B.A, Reynolds T.B. Polymorphonuclear cell count response and duration of antibiotic therapy in spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1989; 9: 423–426.
208. Ljubicic N, Spajic D, Vrkljan M.M, et al. The value of ascitic fluid polymorphonuclear cell count determination during therapy of spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1360–1363.
209. Cho J.H., Park K.H., Kim S.H., Bang J.H., Park W.B., Kim H.B., et al. Bacteremia is a prognostic factor for poor outcome in spontaneous bacterial peritonitis. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 697–702.
210. Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1993;18:353-8.
211. Guarner C, Solà R, Soriano G, et.al. Gastroenterology Risk of a First Community-Acquired Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhotics With Low Ascitic Fluid Protein Levels. *AGA Journals* 1999;117(2):414-9.



212. Andreu M, Sola R, Sitges-Serra A, et al. Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites. *Gastroenterology* 1993; 104: 1133–1138.
213. Bar-Meir S, Lerner E, Conn H O. Analysis of ascitic fluid in cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1979;24:136–144.
214. Iber F L. High protein ascites in patients with uncomplicated hepatic cirrhosis. *Am J Med Sci* 1974;267:275–279.
215. Hoefs J C. Serum protein concentration and portal pressure determine the ascitic fluid protein concentration in patients with chronic liver disease. *J Lab Clin Med* 1983;102:260–273.
216. Mustafa GM, Mamun MA, Khorshed Alam A K M. Study on Ascitic Fluid Protein Level in Cirrhotic Patients With Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Bangladesh Med Res Counc Bull.* 2009;35(2):41-3.
217. Ljubicić N, Bilić A, Babić Z, et al. The significance of low levels of total proteins, albumins, globulins and complement factors in ascitic fluid and the development of spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *Lijec Vjesn* 1992;114(9-12):213-5.
218. Rolachon A, Cordier L, Bacq Y, et al. Ciprofloxacin and long-term prevention of spontaneous bacterial peritonitis: results of a prospective controlled trial. *Hepatology* 1995; 22: 1171–1174.
219. Grange J.D, Roulot D, Pelletier G, et al. Norfloxacin primary prophylaxis of bacterial infections in cirrhotic patients with ascites: a double-blind, randomized trial. *J Hepatol* 1998; 29: 430–436.
220. Novella M.T, Solá R, Soriano G, et al. Continuous versus in patient prophylaxis of the first episode of spontaneous bacterial peritonitis with norfloxacin. *Hepatology.* 1997; 25: 532–536.
221. Ginés P and Navasa M. Antibiotic prophylaxis for spontaneous bacterial peritonitis: how and whom?. *J Hepatol* 1998; 29: 490–494.
222. Levy M.J. and Dipalma J.A. New options for spontaneous bacterial prophylaxis: costly or cost effective?. *Am J Gastroenterol* 1997; 91: 1050–1051.
223. Garcia Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21: 257–275.
224. Chalasani N. and Gitlin N. Incidence and risk factors for spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in patients with chronic liver disease on the waiting list for orthotopic liver transplantation (OLT). *Hepatology* 1997; 26: 491A.

225. Llach J, Rimola A, Navasa M, et al. Incidence and Predictive Factors of First Episode of Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhosis With Ascites: Relevance of Ascitic Fluid Protein Concentration. *Hepatology* 1992;16(3):724-7.
226. Mendall MA, Strachan D, Butland BK, et al. C-reactive protein: Relation to total mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular risk factors in men. *Eur Heart J* 2000;21:1584–1590.
227. Imhof A, Froehlich M, Boeing H, et al. Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation. *Lancet* 2001;357:763–767.
228. Hirschfield GM, Pepys M. C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *Q J Med* 2003;96:793–807.
229. Westhuyzen J, Healy H. Review: Biology and relevance of C-reactive protein in cardiovascular and renal disease. *Ann Clin Lab Sci* 2000;30:133–143.
230. Vigushin DM, Pepys M, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human c-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest* 1993;91:1351–1357.
231. Yuan LY, Ke ZQ, M.D, Wang M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein in the diagnosis and prediction of spontaneous bacterial peritonitis associated with chronic severe hepatitis B. *Ann Lab Med* 2013;33:449-454.
232. Desai AP, Reau N, Reddy G, et al. Persistent spontaneous bacterial peritonitis: a common complication in patients with spontaneous bacterial peritonitis and a high score in the model for end-stage liver disease. *Ther Adv Gastroenterol* 2010;5(5):275-83.
233. Bota DP, Van Nuffelen M, Zakariah AN, Vincent JL. Serum levels of C-reactive protein and procalcitonin in critically ill patients with cirrhosis of the liver. *J Lab Clin Med* 2005; 146: 347-351.
234. Obstein KL, Campbell MS, Reddy RK, et al. Association between model for end-stage liver disease and spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2007;102(12):2732-6.
235. Gayatri AA, Suryadharma IG, Purwadi N, Wibawa D. The relationship between a model of end stage liver disease score (MELD score) and the occurrence of spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhotic patients. *Acta Medica Indonesiana* 2007; 39(2): 75-78.
236. Oey RC, van Buuren HR, de Jong DM, et al. Bacterascites: A study of clinical features, microbiological findings, and clinical significance. *Liver Int* 2018;38(12):2199-2209.

237. Zhang QB, Chen YT, Lion GD, Qian CC, Chen SJ, Huang KH. A combination of models for end-stage liver disease and cirrhosis-related complications to predict the prognosis of liver cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012;36:583-9.
238. Cadranet J.-F, Noursbaum J.-B, Bessaguet C, et al. Low incidence of spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic cirrhotic outpatients. *World Journal of Hepatology* 2013;5(3):104–108.
239. Mohan P, Venkataraman J. Prevalence and risk factors for unsuspected spontaneous ascitic fluid infection in cirrhotics undergoing therapeutic paracentesis in an outpatient clinic. *Indian Journal of Gastroenterology* 2011;30(5):221–224.