

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**Β ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ**

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ-ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Σ.Π. ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ
ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΟΥ DNA ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΑΣΚΙΤΙΚΟ ΥΓΡΟ ΜΕ ΤΗ
ΧΡΗΣΗ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ
ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (REAL TIME POLYMERASE CHAIN REACTION – PCR)
ΣΕ ΝΟΣΗΛΕΥΟΜΕΝΟΥΣ ΚΙΡΡΩΤΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΣΧΥΡΗ
ΥΠΟΨΙΑ ΛΟΙΜΩΞΗΣ**

ΗΛΙΑΝΑ ΜΑΝΗ

ΙΑΤΡΟΣ ΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2021

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

1) Ντουράκης Π Σπυρίδων, Καθηγητής Παθολογίας, Διευθυντής ΄Β Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο (Επιβλέπων)

2) Αλεξοπούλου Αλεξάνδρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας, ΄Β Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

3) Χατζηγιάννη Αιμιλία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοπαθολογίας - Κλινικής Μικροβιολογίας, ΄Β Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 02/05/2017

(Αριθμός πρωτοκόλλου 1617025269)

Ημερομηνία κατάθεσης πρώτης έκθεσης προόδου: 18/05/2018

Ημερομηνία κατάθεσης δεύτερης έκθεσης προόδου: 22/07/2019

Ημερομηνία κατάθεσης τρίτης έκθεσης προόδου: 15/07/2020

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

- 1) Ντουράκης Π Σπυρίδων, Καθηγητής Παθολογίας, Διευθυντής ΄B Πανεπιστημιακής Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο (Επιβλέπων)
- 2) Παπαθεοδωρίδης Γεώργιος, Καθηγητής Παθολογίας - Γαστρεντερολογίας, Διευθυντής Πανεπιστημιακής Γαστρεντερολογικής Κλινικής, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Λαϊκό, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 3) Μανωλακόπουλος Σπήλιος, Καθηγητής Παθολογίας - Γαστρεντερολογίας, ΄B Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 4) Αλεξοπούλου Αλεξάνδρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας, ΄B Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 5) Χατζηγιάννη Αιμιλία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοπαθολογίας - Κλινικής Μικροβιολογίας, ΄B Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 6) Βλαχογιαννάκος Ιωάννης, Καθηγητής Γαστρεντερολογίας, Πανεπιστημιακή Γαστρεντερολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Λαϊκό, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 7) Χολόγγιτας Ευάγγελος, Αναπληρώτης Καθηγητής Παθολογίας, Α΄ Παθολογική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Λαϊκό, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών



ΟΡΚΟΣ
ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΔΙΟΛΛΩΝΑ ΗΙΤΡΟ
Ν ΚΑΙ ΔΙΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ Υ
ΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ
ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΠΙΤΕΛΕΑΠΟΗΣΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥ
ΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗ

ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΧΗΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΜΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΟΣΑΣΘΑΙ
ΚΑΙ ΧΡΕΟΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΤΕ
ΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΟΥΤΕΟΝ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΣΙΝ ΑΡΡ
ΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΗΝ ΧΡΗΖΟΣΙ
ΜΑΘΟΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕ
ΛΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΑ
ΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ
ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΡΑ
ΜΕΜΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΟ ΙΗΤΡΙΚΟ ΑΛΛΟ ΔΕ
ΟΥΔΕΝΙ ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΑ ΚΑΙ
ΝΟΜΤΟΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙΘΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΔΔΙΚΗΝ ΕΙΡΣΕΙΝ ΟΥ ΔΟΣΟ ΔΕ ΟΥΔΕ ΥΠΗΓ
ΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΜΔΕ ΟΜΟΙΟΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΓΥΜΝΑ
ΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΟΟΡΙΟΝ ΔΟΣΟ ΔΓΜΟΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΣΙΟΣ ΔΙΑ
ΤΗΡΗΣΟ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥ
ΤΕΜΕΡ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΟΙΟΝΤΑΣ ΕΚΧΟΡΗΣΟ ΔΕ ΕΡΓΑ
ΤΗΣΙ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΣΙΟΣ ΤΗΣ ΔΕ ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΟΣ
ΑΝ ΕΣΙΟ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΟΦΕΛΕΙΑ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚ
ΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΔΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΟΟΡΙΗΣΤΗΣ
ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΟΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙ
ΟΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ Δ Δ ΔΝ ΕΝ ΟΕΡΑΠΗΗ ΚΑΙ ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ
Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΟΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΟΡΩΠΟΝ ΑΜΗ
ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ ΕΣΟ ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕ
ΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙΑΥΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΥ
ΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΚΟΜΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΜΤΙ ΕΙΗ ΕΠΛΩ
ΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΣΙΑΖΟΜΕΝΟ ΠΑΡΑ
ΤΑΣΙΝ ΑΝΟΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΜΟΝ ΠΑΡΑ
ΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΚ' ΕΠΙΟΡΚΟΥΜΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ
ΤΟΥΤΕΟΝ

*Στην οικογένεια μου
Στους φίλους μου
Στους Δασκάλους μου*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Βιογραφικό σημείωμα	1-16
Πρόλογος	17-18
Συντομογραφίες	19-20
Εισαγωγή	21-23
Μέρος 1 ^ο - Γενικό μέρος	24-66
1. Λοιμώξεις στην κίρρωση	24-36
1.1 Επιδημιολογία	24-26
1.2 Τύποι λοιμώξεων	26-28
1.3 Φυσιολογία της ανοσιακής απάντησης στην κίρρωση	29-34
1.3.α Βακτηριακή μετατόπιση	29-31
1.3.β Διαταραχή στην ομοιοστασία της συστηματικής ανοσιακής απάντησης	31-33
1.3.γ Γενετικοί παράγοντες	33-34
1.4 Πρόγνωση λοιμώξεων στην κίρρωση	34-36
2. Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα	36-48
2.1 Ορισμός, κλινική εικόνα και επιδημιολογία	36-38
2.2 Μικροβιολογία της αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας	38-40
2.3 Πρόγνωση αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας	41-42
2.4 Θεραπεία	42-44
2.5 Προφύλαξη στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα	44-48
2.5.α Δευτερογενής προφύλαξη	44-45
2.5.β Πρωτογενής προφύλαξη	45-47
2.5.γ Λοιπά μέτρα πρόληψης	47-48
3. Βιοδείκτες λοίμωξης και βακτηριακής μετατόπισης στην κίρρωση	48-55
3.1 Δείκτες λοίμωξης στην κίρρωση	48-51
3.2 Δείκτες βακτηριακής μετατόπισης	51-55
4. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης στην ανίχνευση βακτηριακού DNA: Μεθοδολογία και κλινικές εφαρμογές	55-66
4.1 Βασικές αρχές της μεθόδου και παραλλαγές της	55-59

4.2 Ανάλυση των προϊόντων ενίσχυσης	59-60
4.3 Το βακτηριακό DNA σε διάφορες καταστάσεις εκτός παθήσεων του ήπατος	60-63
4.4 Το βακτηριακό DNA ως δείκτης στην κίρρωση	63-64
4.5 Το βακτηριακό DNA στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα	64-66
Μέρος 2 ^ο – Ειδικό μέρος	67-81
Στόχος	67
Ασθενείς και Μέθοδοι	67-72
Αποτελέσματα	72-75
Συζήτηση	75-78
Περίληψη	79-80
Abstract	81
Πίνακες	82-95
Εικόνες	96-104
Βιβλιογραφία	105-124

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

1. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: ΗΛΙΑΝΑ ΜΑΝΗ
Όνομα Πατρός: ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ
Ημερομηνία γέννησης: 16 ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΥ 1988
Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: : ilianamani@windowslive.com

2. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ

Εγκύκλιες σπουδές: 2006, Απόφοιτος Ενιαίου Λυκείου Αμφιλοχίας
Απολυτήριο με βαθμό 19^{6/10}

Προπτυχιακή εκπαίδευση: 2006-2012, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης
Πτυχίο Ιατρικής. Εισαγωγή με πανελλήνιες εξετάσεις.
Αποφοίτηση με Βαθμό 8.4

Άδεια άσκησης του Ιατρικού Επαγγέλματος: 17/07/2012, Νομαρχία Ιωαννίνων

Υπηρεσία υπαίθρου: 09/2012- 09/2013, Περιφερειακό ιατρείο Καστανέων, Έβρος (Άγονο)

Μεταπτυχιακή εκπαίδευση

Εξειδίκευση στην Εσωτερική Παθολογία:

- **Οκτώβριος 2013 - Ιούνιος 2015** (20 μήνες): Παθολογική Κλινική του Ειδικού Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Πειραιά «Μεταξά» (Διευθυντής Νικόλαος Ζήρας)
- **Σεπτέμβριος 2015 – Σεπτέμβριος 2018** (36 μήνες): Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Ιπποκράτειου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Καθηγητής-Διευθυντής Σπυρίδων Π Ντουράκης)
- **Σεπτέμβριος 2018- Φεβρουάριος 2019:** Παράταση ειδικότητας, Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Ιπποκράτειου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών (Καθηγητής-Διευθυντής Σπυρίδων Π Ντουράκης)

Τίτλος ειδικότητας της Παθολογίας: 28/01/2019, περιφέρεια Αττικής

3. ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλικά: Certificate of Proficiency (Michigan) 2008
- Γερμανικά: Mittelstufe (Goethe Institut) 2004

4. ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Μεταπτυχιακό «Αναζωογόνηση» 2019-2021
- Πτυχίο Βασικής υποστήριξης της ζωής (BLS) 2019
- Υποψήφιος Διδάκτωρ Ιατρικής σχολής Αθηνών 2017-Σήμερα
- Ηπατολογικό σχολείο Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης του Ήπατος 2017-2018
- Εκπαίδευση στην Καλή Κλινική πράξη (Good Clinical Practice) 2017
- Πτυχίο Εκπαιδευτή στην Προηγμένη υποστήριξη ζωής, 2015

- Advanced Life Support (ALS)
- Πτυχίο στην Προηγμένη υποστήριξη ζωής, Advanced Life Support
- (ALS)
- Πτυχίο στη γνώση υπολογιστών ECDL

2008

5. ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ

- **Φεβρουάριος 2019- Σεπτέμβριος 2019:** Παράταση ειδικότητας μετά τη λήψη τίτλου ειδικότητας

6. ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

- **Σεπτέμβριος 2019 – Παρόν :** Επικουρικός Παθολόγος με εμπειρία στην Ηπατολογία στη Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική του Ιπποκράτειου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών

7. ΒΡΑΒΕΙΑ / ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

- Τρίτο βραβείο ηλεκτρονικά αναρτημένης ανακοίνωσης. Μελέτη των παραμέτρων του θρομβο-ελαστογραφήματος σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση και ποσοτικές διαταραχές της πήξης. Καμπέλος Γ, Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασίλεια Λ, Νομικού Ε, Αλεξοπούλου Α. 19^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Μαΐου 2021
- Δεύτερο βραβείο ηλεκτρονικά αναρτημένης ανακοίνωσης. Μάνη Η, Βασίλεια Λ, Αγιασσωτέλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι μη επεμβατικοί δείκτες ALBI και PALBI προβλέπουν αξιόπιστα την έκβαση σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος χωρίς οξύ σύμβαμα. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 11-13 Σεπτεμβρίου 2020
- Τρίτο βραβείο Ερευνητικής Ανακοίνωσης. Μάνη Η, Βασίλεια Λ, Γκαμπρέλα Ε, Αγιασσωτέλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης Σ. Τα επίπεδα προϊόντων αποδομήσεως ινώδους του ορού αποτελούν αξιόπιστο δείκτη πρόβλεψης βραχυπρόθεσμης θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 30 Οκτωβρίου 2019
- Βραβείο καλύτερης ηλεκτρονικά αναρτημένης ανακοίνωσης. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα N-γλυκάνης ορού αποτελούν αξιόπιστο μη επεμβατικό δείκτη σημαντικής ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νοσο. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Καλαμάτα, 9-11 Μαΐου 2019

- Πρώτο βραβείο Καλύτερης Προφορικής Ανακοίνωσης. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασίλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη μεταβολής των αιτιών παραπομπής για ελαστογραφία ήπατος στη χρονική περίοδο 2013-2018. Πανελλήνιες Εκπαιδευτικές Ημερίδες ΠΦΥ «Γ. Παπαδάκης», Αθήνα, 11-14 Φεβρουαρίου 2019
- Πρώτο Βραβείο Ερευνητικής Ανακοίνωσης. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Γκαμπρέλα Ε, Βασίλιεβα Λ, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη αξιολόγησης της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα C. Ημέρες Παθολογίας – «Διλήμματα στην Κλινική Παθολογία», Αθήνα, 11-14 Απριλίου 2019
- Τρίτο Βραβείο Προφορικής ανακοίνωσης. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα N-γλυκάνης ορού αποτελούν αξιόπιστο μη επεμβατικό δείκτη κίρρωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο -προκαταρκτικά αποτελέσματα. 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης στην Εσωτερική Παθολογία, Αθήνα, 20-24 Φεβρουαρίου 2019
- Βραβείο πρώτης θέσης στις εξετάσεις του Ηπατολογικού σχολείου της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Ήπατος, 2018
- Βραβείο καλύτερης αναρτημένης ανακοίνωσης. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασίλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Καταγραφή ποσοστού των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C οι οποίοι θεραπεύτηκαν με τα νέα αντιικά φάρμακα την περίοδο 2013-2018. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 31 Οκτωβρίου - 03 Νοεμβρίου 2018
- Βραβείο Καλύτερης Ηπατολογικής Εργασίας «Γεράσιμος Καρβουτζής». Αλεξοπούλου Α, Γεωργιόπουλος Γ, Πουρική Σ, Βασίλιεβα Λ, Κετίκογλου Ι, Λαϊνά Α, Μάνη Η, Δημητρόγλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Σταματελόπουλος Κ, Ντουράκης ΣΠ. Επιδείνωση των αγγειακών παραμέτρων σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C κατά και μετά την αντιική θεραπεία με πεγκυλιωμένη Ιντερφερόνη και Ριμπαβιρίνη. 43^ο Πανελλήνιο Ιατρικό συνέδριο, Αθήνα 10-13 Μαΐου 2017
- Πρώτο βραβείο Καλύτερης Προφορικής ανακοίνωσης. Αγιασωτέλλη Δ, Μάνη Η, Βασίλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Γούκος Δ, Δαΐκος Γ, Ντουράκης ΣΠ. Οι υψηλές τιμές της ανθρώπινης β ντεφενσίνης-1 στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας 30 ημέρων σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση.» 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα 24-27 Νοεμβρίου 2016

- Βραβείο Καλύτερης Ηπατολογικής Εργασίας «Γ. Καρβουντζής». Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Αγιασωτέλλη Δ, Γρατσία Β, Σιρανίδη Κ, Κίττου Ν, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα υψηλά επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης προβλέπουν την ενδιάμεση θνητότητα σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος. 42ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 11-14 Μαΐου 2016
- Υποτροφία λόγω ακαδημαϊκής επίδοσης από το ίδρυμα κρατικών ιπποτροφιών, 2010
- Υποτροφία λόγω ακαδημαϊκής επίδοσης από το ίδρυμα κρατικών ιπποτροφιών, 2008

8. ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Εκπαιδύτρια στην Προηγμένη Υποστήριξη Ζωής (Advanced Life Support ,ALS) και Άμεση υποστήριξη ζωής (Immediate Life Support, ILS), Ελληνική Εταιρία Καρδιοαναπνευστικής αναζωογόνησης (10 σεμινάρια 16 ωρών έκαστο 02/2015-02/2020)
- Διαλέξεις στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «Αναζωογόνηση»
- Εκπαίδευση στην κλινική άσκηση και διαφορική διάγνωση φοιτητών Ιατρικής 3^{ου} και 4^{ου} έτους 2019-παρόν

9. ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Ίκτερος σε ασθενή με λίπωση του ήπατος. 47^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2021
2. Σπάνιες αιτίες επίμονα παθολογικών τιμών ηπατικών ενζύμων. 19^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2021
3. Πως επιτυγχάνεται η υγιής μακροζωία. Διαιτητικές και φαρμακευτικές συστάσεις. Αιχμές στην Παθολογία, 10^η Επιστημονική διημερίδα Αιχμές στην Παθολογία, 2020
4. Εξελίξεις στη θεραπεία επιπλοκών της κίρρωσης. 25^ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης Γ.Ν.Α. « ο Ευαγγελισμός», Αθήνα, 2020
5. Παθογενετικοί μηχανισμοί χρόνιας ηπατικής νόσου-Ηπατοκαρκινογένεσης στη Χρόνια ηπατίτιδα Β. Εκπαιδευτική διημερίδα ίνωση-Κίρρωση-Καρκίνος ήπατος, Αθήνα 2019
- 6.Επίκαιρη ενημέρωση στη θεραπεία νοσημάτων του ήπατος – Οξεία ηπατίτιδα. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση στην Εσωτερική Παθολογία: Τι νεότερο στη διάγνωση και στη θεραπεία των νοσημάτων που αντιμετωπίζει ο Παθολόγος», Αθήνα 2019
7. Ασθενής με αντιρροπούμενη αλκοολική κίρρωση και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (4 εστίες μέγιστης διαμέτρου 4 cm) με πρόοδο υπό Sorafenib. Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο, 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019

8. Ασθενής με σοβαρή οξεία ηπατική βλάβη. Ημέρες Παθολογίας – «Διλήμματα στην Κλινική Παθολογία», Αθήνα, 2019
9. Κλινικό σεμινάριο : Αιμορραγίες πεπτικού. 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2019
10. Ενδιαφέροντα διαγνωστικά και θεραπευτικά προβλήματα-Κλινικό Φροντιστήριο. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018
11. Γυναίκα 60 ετών, παχύσαρκη, με αυξημένες αμινοτρανσφεράσες-Συζήτηση κλινικών περιπτώσεων. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017

10. ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Serum Levels of N-Glycans are Novel Noninvasive Markers for the Diagnosis of Cirrhosis, Liver Glycomics Congress, Ghent, 2019

11. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Mani I, Alexopoulos T, Vasilieva L, Hadziyannis E, Dourakis SP, Alexopoulou A, Vrioni G, Tsiamis C, Tsiriga A, Tsakris A. Bacterial DNA is a prognostic factor of mortality in patients who survived the episode of spontaneous bacterial peritonitis. 11 International Congress of Internal Medicine, Athens 2021
2. Mani I, Alexopoulos T, Vasilieva L, Hadziyannis E, Agiasotelli D, Dourakis SP, Alexopoulou A. Ascitic fluid lactic acid is an accurate predictor of short-term mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis. 11 International Congress of Internal Medicine, Athens 2021
3. Mani I, Alexopoulou A, Alexopoulos T, Pouriki S, Bei M, Gamprela E, Vasilieva L, Dourakis SP. FIB-4, BARD and NAFLD scores perform equally in the exclusion of significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. 11 International Congress of Internal Medicine, Athens 2021
4. Mani I, Vasilieva L, Gamprela E, Agiasotelli D, Alexopoulos T, Pouriki S, Alexopoulou A, Dourakis SP. Serum levels of fibrinogen degradation products are a good prognostic marker of short-term mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. 11 International Congress of Internal Medicine, Athens 2021
5. Mani I, Alexopoulos T, Vasilieva L, Hadziyannis E, Agiasotelli D, Dourakis SP, Alexopoulou A. Ascitic fluid lactic acid is an accurate predictor of short-term mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis. EASL 2021
6. Alexopoulos T, Vasilieva L, Kontogianni M, Tenta R, Georgiou A, Stroumpouli E, Mani I, Alexopoulou A. Evaluation of liver frailty index as a prognostic factor of mortality in patients with liver cirrhosis. AASLD 2020.
7. Alexopoulos T, Vasilieva L, Kontogianni M, Tenta R, Georgiou A, Stroumpouli E, Mani I, Alexopoulou A. Myostatin is an independent variable of low skeletal mass index in liver cirrhosis. AASLD 2020
8. Mani I, Vasilieva L, Alexopoulou A, Hadziyannis E, Agiasotelli D, Alexopoulos T, Zampetas D, Dourakis SP. Human beta-defensin-1 is a highly predictive marker of mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. International Liver Congress™ 2018 – 53 annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL)

9. Alexopoulou A, Pouriki S, Vasilieva L, Alexopoulos T, Diamantea F, Gioka M, Nakou A, Zampetas D, Mani I, Dourakis SP. Evaluation of the New criteria in the diagnosis of cystic fibrosis liver disease. International Liver Congress™ 2018 – 53 annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL)
10. Pouriki S, Vrioni G, Sambatakou H, Vasilieva L, Mani I, Alexopoulou A, Dourakis SP. Prospective study of gastrointestinal tract colonization with multidrug resistant bacteria and potential association with infection development and survival in patients with decompensated cirrhosis. International Liver Congress™ 2017 - 52nd annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL)
11. Alexopoulou A, Vasilieva L, Mani I, Agiasotelli D, Dourakis SP. Single center validation of scores for prediction of mortality in patients with acute-on-chronic liver failure or acute decompensation of cirrhosis without acute-on-chronic liver failure. International Liver Congress™ 2017 - 52nd annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL)
12. Agiasotelli D, Alexopoulou A, Vasilieva L, Mani I, Hadzygiannis E, Goukos D, Daikos GL, Dourakis SP. High serum human beta-defensin-1 is associated with increased short-term mortality in patients with decompensated cirrhosis. International Liver Congress™ 2017 - 52nd annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL)
13. Μάνη Η, Σιασιάκου Σ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Υψηλά ποσοστά μόνιμης ιολογικής ανταπόκρισης ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C με τα νεότερα αντιικά φάρμακα. 25^η Διεθνής Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτίδων B & C, Αθήνα, 2018
14. Αλεξοπούλου Α, Γεωργιόπουλος Γ, Πουρίκη Σ, Βασιλιεβα Λ, Κετίκογλου Ι, Λαινά Α, Μάνη Η, Σταματελόπουλος Κ, Ντουράκης ΣΠ. Επιδείνωση των αγγειακών παραμέτρων σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C κατά και μετά την αντιική θεραπεία με πεγκυλιωμένη Ιντερφερόνη και Ριμπαβιρίνη. 24^η Διεθνής Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτίδων B & C, Αθήνα, 2017
15. Συρανίδη Κ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Αγιασωτέλη Δ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μεταβολή της επιδημιολογίας της HBV κίρρωσης σε νοσηλευόμενους ασθενείς στο διάστημα 2004-2015. 23^η Διεθνής Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτίδων B & C, Αθήνα, 2016
16. Georgiopoulos G, Laina A, Alexopoulou A, Mareti A, Bampatsias D, Karapanou L, Pouriki S, Kanankakis I, Vasilieva L, Mani I, Koutli E, Mavroeidis I, Papamichael C, Dourakis SP, Stamatelopoulos K. Deterioration of subclinical atherosclerosis markers during and after pegylated interferon and ribavirin treatment for chronic hepatitis C. ESC Congress 2018, Munich, Germany
17. Mani I, Alexopoulou A, Vasilieva L, Xatziyiannis E, Agiasotelli D, Alexopoulos T, Zampetas D, Dourakis SP. Human beta-Defensin-1 is a highly predictive marker of mortality in patients with acute on chronic liver failure. 10th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2018
18. Alexopoulou A, Georgiopoulos G, Pouriki S, Mani I, Vasilieva L, Laina A, Zampetas D, Stamatelopoulos K, Dourakis SP. Deterioration of subclinical atherosclerosis markers during and after pegylated interferon and ribavirin treatment for chronic hepatitis C. 10th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2018
19. Pouriki S, Alexopoulos T, Alexopoulou A, Vasilieva L, Diamantea F, Gioka M, Nakou A, Mani I, Zampetas D, Dourakis SP. Evaluation of transient elastography in the diagnosis of cystic fibrosis liver disease. 10th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2018

20. Pouriki S, Alexopoulos T, Alexopoulou A, Vasilieva L, Diamantea F, Gioka M, Nakou A, Zampetas D, Mani I, Dourakis SP. Evaluation of the new criteria in the diagnosis of cystic fibrosis liver disease. 10th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2018
21. Agiasotelli D, Mani I, Vasilieva L, Alexopoulou A, Xatziyiannis E, Goukos D, Daikos GL, Dourakis SP. Serum human beta-Defensin-1 is an accurate predictor of short-term mortality in patients with acute on chronic liver failure. 9th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2017
22. Pouriki S, Vrioni G, Sambatakou H, Vasilieva L, Mani I, Alexopoulou A, Dourakis SP. Low survival in patients with decompensated cirrhosis and gastrointestinal tract colonization by multidrug resistant bacteria. 9th International Congress of Internal Medicine, Athens, 2017

12. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Μάνη Η, Βρυώνη Γ, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλίου Β, Τσιρίγκα Α, Τσιάμης Κ, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ, Αλεξοπούλου Α. Η ανίχνευση βακτηριακού DNA στο ασκίτικο υγρό αποτελεί ανεξάρτητο δείκτη θνητότητας σε ασθενείς που επέζησαν από επεισόδιο αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας. 19^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2021
2. Μάνη Η, Βασιλίου Β, Αλεξόπουλος Θ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Μπέη Μ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα γαλακτικού οξέος ασκίτη προβλέπουν με ακρίβεια τη βραχυπρόθεσμη θνητότητα ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 19^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2021
3. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλίου Β, Βρυώνη Γ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Τσιάμης Κ, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ, Αλεξοπούλου Α. Υψηλό ποσοστό υπερθεραπείας με την εμπειρικά χορηγούμενη αντιβιοτική αγωγή σε ασθενείς με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 19^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2021
4. Μάνη Η, Βασιλίου Β, Αλεξόπουλος Θ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Μπέη Μ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα γαλακτικού οξέος ασκίτη προβλέπουν αξιόπιστα τη βραχυπρόθεσμη θνητότητα ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 40^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα, 2020
5. Μάνη Η, Βρυώνη Γ, Τσιάμης Κ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Αλεξόπουλος Θ, Πουρική Σ, Βασιλίου Β, Αλεξοπούλου Α, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ. Σύγκριση της ευαισθησίας των συμβατικών καλλιιεργειών και της πολλαπλής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης στην ανίχνευση παθογόνων στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα – πρώιμα αποτελέσματα. 40^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα, 2020
6. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Πουρική Σ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Βασιλίου Β, Μπέη Μ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη των παραγόντων που σχετίζονται με θετική καλλιιεργεια ασκίτικού υγρού ή/και αίματος σε ασθενείς με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 40^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα, 2020
7. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Μπέη Μ, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα γαλακτικού οξέος ορού προβλέπουν αξιόπιστα τη βραχυπρόθεσμη θνητότητα ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020
8. Μάνη Η, Βασιλίου Β, Αγιασωτέλλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι μη επεμβατικοί δείκτες ALBI και PALBI προβλέπουν αξιόπιστα την έκβαση σε ασθενείς με μη

αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος χωρίς οξύ σύμβαμα. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020

9. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξοπούλου Α, Αλεξόπουλος Θ, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα Ν – γλυκάνης ορού συσχετίζονται με τη βαρύτητα της ίνωσης στη χρόνια ηπατική νόσο. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020

10. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Χατζηγιάννη Α, Τσιρίγκα Α, Βασιλίσια Λ, Μπέη Μ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη των παραγόντων που σχετίζονται με θετική καλλιέργεια ασκίτικου υγρού σε ασθενείς με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020

11. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Πουρίκη Σ, Μπέη Μ, Βασιλίσια Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι δείκτες APRI και FIB 4 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον αποκλεισμό της κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα Β. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020

12. Αλεξόπουλος Θ, Βασιλίσια Λ, Κοντογιάννη Μ, Τέντα Ρ, Γεωργίου Α, Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Ο δείκτης ευπάθειας ασθενών με κίρρωση (liver frailty index - lfi) αποτελεί προγνωστικό παράγοντα επιβίωσης. 18^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2020

13. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Βασιλίσια Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα Β σε ασθενείς με διαφορετικά επίπεδα τρανσαμινασών. 27^ο Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτιδών Β & C «Στ. Χατζηγιάννης», Αθήνα, 2020

14. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα Ν-Γλυκανών του ορού αποτελούν αξιόπιστο μη επεμβατικό δείκτη σημαντικής ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση στην Εσωτερική Παθολογία: Τι νεότερο στη διάγνωση και στη θεραπεία των νοσημάτων που αντιμετωπίζει ο Παθολόγος», Αθήνα 2019

15. Μάνη Η, Βασιλίσια Λ, Αλεξόπουλος Θ, Γκαμπρέλα Ε, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι μη επεμβατικοί δείκτες ALBI και PALBI προβλέπουν αξιόπιστα την έκβαση σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος χωρίς οξύ σύμβαμα. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση στην Εσωτερική Παθολογία: Τι νεότερο στη διάγνωση και στη θεραπεία των νοσημάτων που αντιμετωπίζει ο Παθολόγος», Αθήνα 2019

16. Μάνη Η, Βασιλίσια Λ, Γκαμπρέλα Ε, Αγιασωτέλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα προϊόντων αποδόμησης ινώδους του ορού αποτελούν αξιόπιστο δείκτη πρόβλεψης βραχυσπρόθεσμης θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση στην Εσωτερική Παθολογία: Τι νεότερο στη διάγνωση και στη θεραπεία των νοσημάτων που αντιμετωπίζει ο Παθολόγος», Αθήνα 2019

17. Μάνη Η, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλίσια Λ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Ο λόγος φεριπτίνης ορού προς αιμοσφαιρίνη αποτελεί ιδιαίτερα αξιόπιστο δείκτη πρόγνωσης 30 ημερών σε ασθενείς με αλκοολική ηπατίτιδα. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019

18. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα Ν-γλυκάνης ορού αποτελούν αξιόπιστο μη επεμβατικό δείκτη σημαντικής ίνωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019

19. Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Βασιλίσια Λ, Βρυώνη Γ, Κολλιού Θ, Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Τσακρή Α, Ντουράκης ΣΠ. Μείωση της συχνότητας και της ποικιλίας του αποικισμού από

- πολυανθεκτικά βακτηρίδια κίρρωτικών ασθενών μετά από ευρεία εφαρμογή εκκενωτικών παρακεντήσεων στο εξωτερικό ιατρείο. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019
20. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη αξιολόγησης της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα C. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019
21. Μάνη Η, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλιεβα Λ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη αξιολόγησης της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα Β. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019
22. Σιασιάκου Σ, Μάνη Η, Μαρινάκης Θ, Καρακατσάνης Σ, Γκορτζολίδης Γ, Παπαθεοδωρίδη Μ, Παπαδάτος Σ, Παγώνη Σ Συρίγος Κ, Ντουράκης ΣΠ. Ασθενείς με Χρόνια ηπατίτιδα C (ΧΗC) και κακοήθεια: Πορεία νόσου και έκβαση. 26^ο Εκδήλωση Ιογενών Ηπατιτίδων Β & C «ΣΤ. Χατζηγιάννης», Αθήνα, 2019
23. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλιεβα Λ, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη αξιολόγησης της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα C. Ημέρες Παθολογίας – «Διλήμματα στην Κλινική Παθολογία», Αθήνα, 2019
24. Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Βασιλιεβα Λ, Βρυώνη Γ, Κολλιού Θ, Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ. Μείωση της συχνότητας και της ποικιλίας του αποικισμού από πολυανθεκτικά βακτηρίδια κίρρωτικών ασθενών μετά από ευρεία εφαρμογή εκκενωτικών παρακεντήσεων στο εξωτερικό ιατρείο. 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2019
25. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλιεβα Λ, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη αξιολόγησης της αξιοπιστίας των μη επεμβατικών ορολογικών μεθόδων εκτίμησης της προχωρημένης ίνωσης/κίρρωσης στη χρόνια ηπατίτιδα C. 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2019
26. Πουρίκη Σ, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλιεβα Λ, Βρυώνη Γ, Κολλιού Θ, Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ. Αναστροφή του αποικισμού από πολυανθεκτικά βακτηρίδια μετά την απομάκρυνση του κίρρωτικού ασθενούς από το περιβάλλον του Νοσοκομείου. 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2019
27. Μάνη Η, Χατζηγιάννη Α, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα επίπεδα Ν-γλυκάνης ορού αποτελούν αξιόπιστο μη επεμβατικό δείκτη κίρρωσης σε ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο-Προκαταρκτικά αποτελέσματα. 45^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2019
28. Μάνη Η, Γκαμπρέλα Ε, Βασιλιεβα Λ, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Ο λόγος φεριττίνη ορού προς αιμοσφαιρίνη αποτελεί ιδιαίτερα αξιόπιστο δείκτη πρόγνωσης 30 ημερών σε ασθενείς με αλκοολική ηπατίτιδα. 17^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό συνέδριο, Καλαμάτα 2019
29. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη μεταβολής των αιτιών παραπομπής για ελαστογραφία ήπατος στην χρονική περίοδο 2013-2018. Πανελλήνιες Εκπαιδευτικές Ημερίδες Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας «Γ.Παπαδάκης», Αθήνα, 2019
30. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Καταγραφή του ποσοστού των

ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C οι οποίοι θεραπεύτηκαν με τα νέα αντιικά φάρμακα την περίοδο 2013-2018. Πανελλήνιες Εκπαιδευτικές Ημερίδες Πρωτοβάθμιας Φροντίδας Υγείας «Γ. Παπαδάκης», Αθήνα, 2019

31. Σιάφη Ε, Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλιεβα Λ, Γκαμπρέλα Ε, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη της επιδημιολογίας της οξείας ηπατίτιδας, το διάστημα 2017-2018 σε παθολογική κλινική τριτοβάθμιου νοσοκομείου. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018

32. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη μεταβολής των αιτίων παραπομπής για ελαστογραφία ήπατος στην χρονική περίοδο 2013-2018. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018

33. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Καταγραφή του ποσοστού των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C οι οποίοι θεραπεύτηκαν με τα νέα αντιικά φάρμακα την περίοδο 2013-2018. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018

34. Μάνη Η, Παντελιδάκη Ε, Γκαμπρέλα Ε, Αλεξόπουλος Θ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Διαγνωστικές δυσκολίες και επιπλοκές οξείας ηπατίτιδας Ε σε ασθενή με χρόνια ηπατοπάθεια. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018

35. Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Βασιλιεβα Λ, Χατζηγιάννη Α, Αγιασσωτέλη Δ, Μπέη Μ, Αλεξόπουλος Θ, Ντουράκης ΣΠ. Τα υψηλά επίπεδα βήτα-ντεφενσίνης-1 ορού αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη βραχυπρόθεσμης θνητότητας σε ασθενείς με οξεία-επι-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια. 2^ο Συνέδριο Κλινικής Ηπατολογίας, Αθήνα, 2018

36. Σιάφη Ε, Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλιεβα Λ, Γκαμπρέλα Ε, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη της επιδημιολογίας της οξείας ηπατίτιδας, το διάστημα 2017-2018 σε παθολογική κλινική τριτοβάθμιου νοσοκομείου. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 2018

37. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη μεταβολής των αιτίων παραπομπής για ελαστογραφία ήπατος στην χρονική περίοδο 2013-2018. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 2018

38. Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Βασιλιεβα Λ, Χατζηγιάννη Α, Αγιασσωτέλη Δ, Μπέη Μ, Αλεξόπουλος Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα υψηλά επίπεδα βήτα-ντεφενσίνης-1 ορού αποτελούν ισχυρό προγνωστικό δείκτη βραχυπρόθεσμης θνητότητας σε ασθενείς με οξεία-επι-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 2018

39. Αλεξόπουλος Θ, Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Σιάφη Ε, Βασιλείου Ν, Γκαμπρέλα Ε, Παπαδημητρόπουλος Β, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Καταγραφή του ποσοστού των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C οι οποίοι θεραπεύτηκαν με τα νέα αντιικά φάρμακα την περίοδο 2013-2018. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 2018

40. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Αγιασσωτέλη Δ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι υψηλές τιμές προκαλσιτονίνης (Procalcitonin, PCT) στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας διμήνου σε ασθενείς με οξεία επί χρονίας ηπατική ανεπάρκεια. Πρόδρομα αποτελέσματα. 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης στην Εσωτερική Παθολογία, Θεσσαλονίκη, 2018

41. Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Αγιασσωτέλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Ντουράκης ΣΠ. Η βήτα-Ντιφενσίνη-1 ορού αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη

- θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης στην Εσωτερική Παθολογία, Θεσσαλονίκη, 2018
42. Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Αγιασωτέλλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Ντουράκης ΣΠ. Η βήτα-Ντιφενσίνη-1 ορού αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
43. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Αγιασωτέλλη Δ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι υψηλές τιμές προκαλσιτονίνης (Procalcitonin,PCT) στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας διμήνου σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. Πρόδρομα αποτελέσματα. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
44. Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Αλεξοπούλου Α, Βασιλιεβα Λ, Διαμαντέα Φ, Γκιοκά Μ, Νάκου Α, Ζαμπέτας Δ, Μάνη Η, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση των νέων κριτηρίων για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου στην κυστική ίνωση. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
45. Πουρίκη Σ, Αλεξοπούλου Α, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλιεβα Λ, Διαμαντέα Φ, Γκιοκά Μ, Νάκου Α, Μάνη Η, Ζαμπέτας Δ, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση της ελαστογραφίας ήπατος για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου της κυστικής ίνωσης. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
46. Μάνη Η, Σιασιάκου Σ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που έλαβαν αγωγή με αντιακά φάρμακα. Πρώιμα αποτελέσματα. 44^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
47. Αλεξόπουλος Θ, Πουρίκη Σ, Αλεξοπούλου Α, Βασιλιεβα Λ, Διαμαντέα Φ, Γκιοκά Μ, Νάκου Α, Ζαμπέτας Δ, Μάνη Η, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση των νέων κριτηρίων για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου στην κυστική ίνωση. 16^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
48. Μάνη Η, Σιασιάκου Σ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Εμφάνιση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C που έλαβαν αγωγή με αντιακά φάρμακα. Πρώιμα αποτελέσματα. 16^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
49. Πουρίκη Σ, Αλεξοπούλου Α, Αλεξόπουλος Θ, Βασιλιεβα Λ, Διαμαντέα Φ, Γκιοκά Μ, Νάκου Α, Μάνη Η, Ζαμπέτας Δ, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση της ελαστογραφίας ήπατος για τη διάγνωση της ηπατικής νόσου της κυστικής ίνωσης. 16^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
50. Μάνη Η, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Αγιασωτέλλη Δ, Αλεξόπουλος Θ, Ζαμπέτας Δ, Ντουράκης ΣΠ. Η βήτα-Ντιφενσίνη-1 ορού αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. 16^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
51. Μάνη Η, Αλεξόπουλος Θ, Αγιασωτέλλη Δ, Βασιλιεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Οι υψηλές τιμές προκαλσιτονίνης (Procalcitonin,PCT) στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας διμήνου σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια. Πρόδρομα αποτελέσματα. 16^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 2018
52. Ζαμπέτας Δ, Δημητρόγλου Ι, Κουλλιάς Ε, Βασιλιεβα Λ, Σιασιάκου Σ, Μάνη Η, Κετίκογλου Ι, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Χαμηλό ποσοστό ελέγχου ορολογικών δεικτών της ηπατίτιδας Β σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Εμπειρία εξωτερικού ηπατολογικού ιατρείου τριτοβάθμιου νοσοκομείου. 1^ο Συνέδριο κλινικής ηπατολογίας, Αθήνα, 2017

53. Δημητρόγλου Ι, Ζαμπέτας Δ, Κουλλιάς Ε, Βασιλίστα Λ, Καραμπατσάκη Ε, Μάνη Η, Κετίκογλου Ι, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Χαμηλό ποσοστό εμβολιασμού ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C έναντι των ιών ηπατίτιδας Α και Β. Εμπειρία εξωτερικού ηπατολογικού ιατρείου τριτοβάθμιου νοσοκομείου. 1^ο Συνέδριο κλινικής ηπατολογίας, Αθήνα, 2017
54. Μάνη Η, Παπαδημητρόπουλος Β, Τσιρώνη Ι, Ζάρκου Σ, Βασιλείου Ν, Κετίκογλου Ι, Κίττου Ν, Βασιλόπουλος Δ, Ντουράκης ΣΠ. Οξεία ικτερική ηπατίτιδα ως εκδήλωση νόσου Still των ενηλίκων. 1^ο Συνέδριο κλινικής ηπατολογίας, Αθήνα, 2017
55. Πουρίκη Σ, Βρυώνη Γ, Σαμπατάκου Ε, Βασιλίστα Λ, Μάνη Η, Αλεξοπούλου Α, Τσακρής Α, Ντουράκης ΣΠ. Προοπτική μελέτη του αποικισμού του εντέρου από πολυανθεκτικά βακτήρια και συσχέτιση με την επιβίωση σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση του ήπατος. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
56. Μάνη Η, Αγιασωτέλλη Δ, Βασιλίστα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Γούκος Δ, Δαΐκος Γ, Ντουράκης ΣΠ. Τα υψηλά επίπεδα βήτα-ντεφενσίνης-1 ορού σχετίζονται με υψηλή βραχυπρόθεσμη θνητότητα στους ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
57. Αλεξοπούλου Α, Βασιλίστα Λ, Μάνη Η, Αγιασωτέλλη Δ, Κουλλιάς Ε, Ζαμπέτας Δ, Καραμπατσάκη Ε, Παντελιδάκη Ε, Κίττου Ν, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση των μοντέλων για την πρόβλεψη θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια (ΟΕΧΗΑ) ή οξεία ρήξη της αντιρρόπησης χωρίς ΟΕΧΗΑ. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
58. Δημητρόγλου Ι, Καραμπατσάκη Ε, Μάνη Η, Βασιλίστα Λ, Κουλλιάς Ε, Ζαμπέτας Δ, Κετίκογλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Κίττου Ν, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Ελλιπής έλεγχος των ορολογικών δεικτών των ηπατίτιδων Β και Α και σύσταση για εμβολιασμό σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Πρώιμα αποτελέσματα. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
59. Ηλιάννα Μάνη, Ιωάννης Δημητρόγλου, Δημήτριος Ζαμπέτας, Εμμανουήλ Κουλλιάς, Ελένη Καραμπατσάκη, Σοφία Σιασιάκου, Λαρίσα Βασιλίστα, Ιωάννης Κετίκογλου, Ελένη Παντελιδάκη, Αλεξάνδρα Αλεξοπούλου, Σπυρίδων Π. Ντουράκης. Μελέτη της επίδρασης των νέων από του στόματος αντιικών φαρμάκων στην εξέλιξη της μη αντιρροπούμενης ΗCV κίρρωσης. Πρόδρομα αποτελέσματα. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
60. Σαμπατάκου Ε, Καραμπατσάκη Ε, Λουρίδα Π, Χατζάκης Α, Μάνη Η, Βασιλίστα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Συλλοίμωση HIV/HCV. Εμπειρία μονάδας ειδικών λοιμώξεων. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
61. Αλεξοπούλου Α, Γεωργιόπουλος Γ, Πουρίκη Σ, Βασιλίστα Λ, Κετίκογλου Ι, Λαινά Α, Μάνη Η, Δημητρόγλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Σταματελόπουλος Κ, Ντουράκης ΣΠ. Επιδείνωση των αγγειακών παραμέτρων σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C κατά και μετά την αντιική θεραπεία με πεγκυλιωμένη Ιντερφερόνη και Ριμπαβιρίνη. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Λάρισα, 2017
62. Αλεξοπούλου Α, Γεωργιόπουλος Γ, Πουρίκη Σ, Βασιλίστα Λ, Κετίκογλου Ι, Λαινά Α, Μάνη Η, Δημητρόγλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Σταματελόπουλος Κ, Ντουράκης ΣΠ. Επιδείνωση των αγγειακών παραμέτρων σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C κατά και μετά την αντιική θεραπεία με πεγκυλιωμένη Ιντερφερόνη και Ριμπαβιρίνη. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017
63. Αλεξοπούλου Α, Βασιλίστα Λ, Μάνη Η, Αγιασωτέλλη Δ, Κουλλιάς Ε, Ζαμπέτας Δ, Καραμπατσάκη Ε, Παντελιδάκη Ε, Κίττου Ν, Ντουράκης ΣΠ. Αξιολόγηση των μοντέλων για την πρόβλεψη θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια (ΟΕΧΗΑ) ή οξεία ρήξη της αντιρρόπησης χωρίς ΟΕΧΗΑ. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017

64. Μάνη Η, Δημητρόγλου Ι, Ζαμπέτας Δ, Κουλλιάς Ε, Καραμπατσάκη Ε, Σιασιάκου Σ, Βασιλίεβα Λ, Κετίκογλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μελέτη της επίδρασης των νέων από του στόματος νατιικών φαρμάκων στην εξέλιξη της μη αντιρροπούμενης HCV κίρρωσης. Πρόδρομα αποτελέσματα. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017
65. Σαμπατάκου Ε, Καραμπατσάκη Ε, Λουρίδα Π, Χατζάκης Α, Μάνη Η, Βασιλίεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Συλλοίμωξη HIV/HCV. Εμπειρία μονάδας ειδικών λοιμώξεων. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017
66. Δημητρόγλου Ι, Καραμπατσάκη Ε, Μάνη Η, Βασιλίεβα Λ, Κουλλιάς Ε, Ζαμπέτας Δ, Κετίκογλου Ι, Παντελιδάκη Ε, Κίττου Ν, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Ελλιπής έλεγχος των ορολογικών δεικτών των ηπατίτιδων Β και Α και σύσταση για εμβολιασμό σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C. Πρώιμα αποτελέσματα. 43^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2017
67. Σιρανίδη Κ, Μάνη Η, Βασιλίεβα Λ, Αγιασωτέλλη Δ, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Μεταβολή της επιδημιολογίας της κίρρωσης ιογενούς αιτιολογίας σε νοσηλευόμενους ασθενείς το διάστημα 2004-2015. 42^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2016
68. Μάνη Η, Βασιλίεβα Λ, Αγιασωτέλλη Δ, Γρατσία Β, Σιρανίδη Κ, Κίττου Ν, Αλεξοπούλου Α, Ντουράκης ΣΠ. Τα υψηλά επίπεδα C-αντιδρώσα πρωτεΐνης προβλέπουν την ενδιάμεση θνητότητα σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος. 42^ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα, 2016
69. Αγιασωτέλλη Δ, Μάνη Η, Βασιλίεβα Λ, Αλεξοπούλου Α, Χατζηγιάννη Α, Γούκος Δ, Δαΐκος Γ, Ντουράκης ΣΠ.
Οι υψηλές τιμές της ανθρώπινης β ντεφενσίνης-1 στον ορό αποτελούν ισχυρό προγνωστικό παράγοντα θνησιμότητας 30 ημερών σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση.» 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα 2016

13. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Mani I, Alexopoulou A, Helen Pantelidaki, Konstantinos Toutouzas, Spilios Manolakopoulos, Anastasia Kourikou, Charalampos Kalantzis, Larisa Vasilieva, Spyros P Dourakis. Bouveret Syndrome Presented with Upper Gastrointestinal Bleeding and Complicated by Distal Gallstone Ileus. *EC Gastroenterology and Digestive System* 2019, 6.9: 793-796.
2. Alexopoulou A, Mani I, Tiniakos DG, Kontopidou F, Tsironi I, Noutsou M, Pantelidaki H, Dourakis SP. Successful treatment of noncirrhotic portal hypertension with eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A case report. *World J Hepatol* 2019, 11(5):483-488
3. Georgiopoulos G, Alexopoulou A, Pouriki S, Vasilieva L, Laina A, Bampatsias D, Mani I, Kontogiannis C, Tousoulis D, Stamatelopoulos K, Dourakis SP. Pegylated interferon and ribavirin treatment for chronic hepatitis C deteriorates subclinical markers of vascular function. *Hellenic J Cardiol* 2019, 60(2):143-145
4. Gkamprela E, Mani I, Alexopoulou A, Vasilieva L, Pouriki S, Dourakis SP. Letter: high ferritin to haemoglobin ratio is related to early mortality in patients with alcoholic hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2019, 49(11):1456-1457
5. Mani I, Alexopoulou A, Vasilieva L, Hadziyannis E, Agiasotelli D, Bei M, Alexopoulos T, Dourakis SP. Human beta-defensin-1 is a highly predictive marker of mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. *Liver Int* 2019, 39(2):299-306

6. Pouriki S, Vrioni G, Sambatakou H, Alexopoulou A, Vasilieva L, Mani I, Tsakris A, Dourakis SP. Intestinal colonization with resistant bacteria: a prognostic marker of mortality in decompensated cirrhosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018, 37(1):127-134.
7. Alexopoulou A, Vasilieva L, Mani I, Agiasotelli D, Pantelidaki H, Dourakis SP. Single center validation of mortality scores in patients with acute decompensation of cirrhosis with and without acute-on-chronic liver failure. *Scand J Gastroenterol* 2017, 52(12):1385-1390
8. Vallianou N, Kollas A, Schizas N, Theodorakopoulou E, Tripodaki E, Vourlakou C, Mani I, Ziras N. Epithelioid hemangioendothelioma presenting as fever of unknown origin. *Arch Med Sci* 2017, 13(3):696-697
9. Tsioufis K, Tsioufis C, Dimitriadis K, Mantzouranis E, Mani I, Tousoulis D. Differential effects of lercanidipine/enalapril versus amlodipine/enalapril and hydrochlorothiazide/enalapril on target organ damage and sympathetic activation in non-obese essential hypertensive subjects. *Curr Med Res Opin* 2016, 32(sup2):35-41.
10. Papazian M, Kalantzis I, Galanopoulos G, Mani I, Tzaida O, Iacovidou I, Ziras N. Malignant myoepithelioma of the breast: A case report and review of the literature, *Molecular and clinical Oncology* 2016, 4: 723–727

14. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Mani I, Vasilieva L, Alexopoulou A. Αλλαγές στην επιδημιολογία των βακτηριακών λοιμώξεων στην κίρρωση του ήπατος – Ο ρόλος των πολυανθεκτικών μικροβίων. *Acta Microbiologica Hellenica* 2018, 63 (1)
2. Mani I, Dourakis SP. Complications and treatment of acute liver failure: Current aspects. *Archives of Hellenic Medicine* 2019, 36(4):452-463
3. Mani I, Vasilieva L, Dourakis SP. Portal vein thrombosis and thrombosis of the hepatic veins; Current aspects. *Archives of Hellenic Medicine* 2019, 36(1):9-24
4. Mani I, Dourakis SP. Acute liver failure: Current aspects. *Archives of Hellenic Medicine* 2019, 36(3):335-348
5. Mani I, Vasilieva L, Dourakis SP. Bacterial infection in cirrhosis of the liver: New aspects. *Archives of Hellenic Medicine* 2018, 35(1):7–28
6. Mani I, Vasilieva L, Dourakis SP. Liver complications of cardiovascular surgery. *Archives of Hellenic Medicine* 2018, 35(3):322–336
7. Mani I, Vasilieva L, Dourakis SP. Uncommon vascular liver diseases. *Archives of Hellenic Medicine* 2018, 35(6):729–740
8. Mani I, Dourakis SP. Nutrition in Liver disease, *Archives of Hellenic Medicine* 2017, 34:10–26
9. Mani I, Dourakis SP. Hepatic osteodystrophy, *Archives of Hellenic Medicine* 2016, 33: 596-609

15. ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ-ΒΙΒΛΙΑ

1. Βιβλίο Κλινικής Ηπατολογίας της Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης ήπατος
 - a. Βιοψία ήπατος. Ηλιάνα Μάνη, Βασίλειος Παπαδημητρόπουλος

- b. Φυσιολογία της ηπατικής λειτουργίας-χολικής έκκρισης. Ηλιάνα Μάνη, Σπυρίδων Π Ντουράκης
- 2. Τιμητικός τόμος Καθηγητή Αναγνωστόπουλου «50 χρόνια καρδιοχειρουργικής» :
‘Έπιπλοκές Καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων από το ‘Ήπαρ’ (σελ 253-270)

16. ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΠΟΛΥΚΕΝΤΡΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

- 1. Cardiac Oncology Toxicity (ESC-COT), EURObservational Research Programme ,
European Society of Cardiology (ESC)
- 2. “Utilizations patterns of Zepatier® (Elbasvir/Grazoprevir, MSD) in the Greek real world
setting”-INSPIRED STUDY
- 3. SEMA-NASH (NN9931-4296)
- 4. MNK61053106 - MNK-6105 for Patients With Cirrhosis and High Ammonia Levels
Affecting Brain Function

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στη ΄Β Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Εργαστήριο, στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο, το διάστημα 2017-2021.

Αντικείμενο της μελέτης είναι η αξιολόγηση της κλινικής εφαρμογής της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης σε κίρρωτικούς ασθενείς με υποψία λοίμωξης. Κατόπιν ανασκόπησης της βιβλιογραφίας, επιλέχθηκε η χρήση ενός εμπορικά διαθέσιμου αντιδραστηρίου πολυπλεκτικής (multiplex) πραγματικού χρόνου αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης για το οποίο υπάρχει εκτενής έρευνα στο πεδίο της σήψης-σηπτικής καταπληξίας. Αντίθετα, στο πεδίο της κίρρωσης, τα δεδομένα είναι ελλιπή.

Αρχικώς, μελετήθηκε η μοριακή μέθοδος ως μέσο για τη ενίσχυση της ευαισθησίας των συμβατικών καλλιεργητικών τεχνικών στην ταυτοποίηση παθογόνων και τη μείωση του χρόνου αναμονής έως το αποτέλεσμα. Επιπλέον, αξιολογήθηκαν οι κλινικές προεκτάσεις της ανίχνευσης βακτηριακού DNA αναφορικά με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών, τους δείκτες βαρύτητας της ηπατικής βλάβης και της ανοσιακής αντίδρασης αλλά και την έκβαση κατά το οξύ επεισόδιο και μετά την αποδρομή αυτού.

Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής μου για την επιστημονική υποστήριξη της μελέτης, την καθοδήγηση τους, τον καθόλου ευκαταφρόνητο χρόνο που διέθεσαν σε όλα τα στάδια της και επιπλέον για όσα μου έμαθαν και εξακολουθούν να μου μαθαίνουν καθημερινά. Κυρίως όμως τους ευχαριστώ για την ηθική και συναισθηματική τους συμπαράσταση όλο αυτό το διάστημα.

Ευχαριστώ επίσης την Καθηγήτρια Μικροβιολογίας κυρία Γεωργία Βρυώνη, τον Καθηγητή Αθανάσιο Τσακρή και τον Επίκουρο Καθηγητή Κωνσταντίνο Τσιάμη για την πολύτιμη συνεισφορά τους στην τέλεση των πειραμάτων όπως και την κυρία Αθανασία Τσιρίγκα,

Διευθύντρια του Μικροβιολογικού τμήματος του Ιπποκρατείου και τους συνεργάτες της για την πραγματικά ανεκτίμητη εργασία τους στην ταυτοποίηση των παθογόνων στις καλλιέργειες τόσο για τη συγκεκριμένη μελέτη, όσο και στην καθημερινή κλινική πράξη.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους συναδέλφους ειδικευόμενους στη ΄Β Πανεπιστημιακή κλινική για τη βοήθεια τους στη συλλογή των δειγμάτων και στην κυρία Λαρίσα Βασίλιεβα που με υπομονή μου έμαθε όσα ξέρω για τη στατιστική ανάλυση και τη μεθοδολογία της έρευνας.

Να τονίσω ακόμα τη σημαντική συνεισφορά της Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης Ήπατος που χρηματοδότησε την αγορά των αντιδραστηρίων χωρίς τα οποία θα ήταν ιδιαίτερα δύσκολη αν όχι αδύνατη η ολοκλήρωση της μελέτης.

Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα την οικογένεια και τους φίλους μου για την άπειρη υπομονή και κατανόηση τους. Σε αυτούς αφιερώνεται αυτή η μελέτη.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΑΒΠ	Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα
BT	bacterial translocation – βακτηριακή μετατόπιση
ΔΕΣ	δικτυοενδοθηλιακό σύστημα
ΗΚΚ	Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα
ΟΕΧΗΑ	οξεία-επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια
AMPs	antimicrobial peptides - φυσικά αντιμικροβιακά πεπτίδια
BactDNA	bacterial deoxyribonucleic acid – βακτηριακό δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
CA	community acquired – προερχόμενη από την κοινότητα
CFU	colony-forming units, μονάδες σχηματισμού αποικιών
CRP	c-reactive protein, c-αντιδρώσα πρωτεΐνη
DNA	deoxyribonucleic acid - δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
DR	drug resistant – ανθεκτικά
ESβL	extended-spectrum β-lactamase producing, με έκφραση ευρέος φάσματος βήτα-λακταμασών
HA	hospital acquired - νοσοκομειακή
HCA	health care associated – σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας
IgA	immunoglobulin A – ανοσοσφαιρίνη Α
IL-6	Interleukin -6, ιντερλευκίνη-6
CAIDS	cirrhosis-associated immune dysfunction syndrome-σχετιζόμενο με την κίρρωση σύνδρομο ανοσιακής δυσλειτουργίας
CI	confidence intervals- διαστήματα εμπιστοσύνης
DAMPS	danger/damage-associated molecular patterns σχετιζόμενα με κίνδυνο/βλάβη μοριακά πρότυπα
HR	hazard ratio-λόγος κινδύνου
INR	international normalised ratio-διεθνής ομαλοποιημένος λόγος
LBP	lipopolysaccharide-binding protein, συνδετική πρωτεΐνη της λιποπολυσακχαρίδης
LPS	lipopolysaccharide- λιποπολυσακχαρίδη
MELD	Model for end-stage liver disease score

MIC	minimum inhibitory concentration – ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση
MR	multiresistant– πολυανθεκτικά
MRSA	methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> - ανθεκτικός στη μεθικιλίνη <i>Staphylococcus aureus</i>
NBBs	non-selective b-blockers, μη εκλεκτικοί β-αναστολείς
NLR	neutrophils-to-lymphocytes ratio, λόγος πολυμορφοπύρηνων προς λεμφοκύτταρα
NF-κB	nuclear factor-κB, πυρηνικός παράγοντας-κB
NO	nitric acid – μονοξείδιο του αζώτου
NWR	neutrophils to white blood cells ratio, Λόγος πολυμορφοπύρηνων-λευκά αιμοσφαίρια αίματος
PAMPS	pathogen-associated molecular patterns- σχετιζόμενα με παθογόνα μοριακά πρότυπα
PCR	polymerase chain reaction - αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PDR	pandrug resistant – πανανθεκτικά
PPIs	proton pump inhibitors – αναστολείς αντλίας πρωτονίων
PTC	procalcitonin - προκαλσιτονίνη
ROC	Receiver Operating Characteristic curve-καμπύλη Λειτουργικού Χαρακτηριστικού Δέκτη
ROS	reactive oxygen species- ελεύθερες ρίζες οξυγόνου
SAAG	serum-ascites albumin gradient-κλίση λευκωματίνης ορού προς λευκωματίνη ασκίτικου υγρού
SIBO	small intestinal bacterial overgrowth - βακτηριακή υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome- σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης
TNF-α	Tumor necrosis factor-α, παράγοντας νέκρωσης όγκου-α
VRE	vancomycin resistant <i>Enterococcus</i> - ανθεκτικός στη βανκομικίνη <i>Enterococcus</i>
XR	extensively resistant – εξαιρετικά ανθεκτικά

Εισαγωγή

Η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα (ΑΒΠ) ορίζεται ως η παρουσία >250 ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων $\times 10^9/L$ στο ασκитικό υγρό σε ασθενείς με κίρρωση και απουσία ενδοκοιλιακής λοίμωξης ή κακοήθειας.[1] Η θνητότητα κατά το οξύ επεισόδιο κυμαίνεται στο 15 έως 20% [2,3] ενώ η θνητότητα έτους στο 66%.[4]

Η έγκαιρη χορήγηση κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής είναι απαραίτητη για τη βελτίωση της πρόγνωσης καθώς καθυστερήσεις ή αστοχίες στην αντιμετώπιση συσχετίζονται με αύξηση της θνητότητας.[5,6] Η επιλογή της εμπειρικής αγωγής βασίζεται στις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες [7], λαμβάνοντας ταυτόχρονα υπόψη τα τοπικά επιδημιολογικά δεδομένα, τον τύπο της λοίμωξης [λοίμωξη κοινότητας (community-acquired, CA), νοσοκομειακή (hospital acquired, HA) ή σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας (health-care-associated, HCA)] [8] αλλά και τη βαρύτητα αυτής.[9] Στην πορεία της νόσου, η ταυτοποίηση του υπεύθυνου παθογόνου επιτρέπει την στοχευμένη τροποποίηση της αγωγής.

Η καλλιεργητική τεχνική με τη μεγαλύτερη ευαισθησία για την απομόνωση παθογόνων στην ΑΒΠ, είναι ο παρά την κλίνη ενοφθαλμισμός τουλάχιστον 10 ml ασκитικού υγρού σε φιάλη αιμοκαλλιέργειας.[10] Αν και με αυτή την τεχνική ορισμένες μελέτες αναφέρουν ευαισθησία της τάξης του 77-90% [11,12], στην κλινική πράξη 30-50% των καλλιεργείων πολυμορφοπυρηνικού ασκίτη παραμένουν αρνητικές.[10] Η ταυτόχρονη λήψη αιμοκαλλιεργείων μπορεί να αποκαλύψει το υπεύθυνο παθογόνο στο 31 (15-48%) των περιπτώσεων.[13] Πέραν της μέτριας έως χαμηλής ευαισθησίας, έτερο μειονέκτημα των κλασικών καλλιεργείων είναι η καθυστέρηση τόσο στην ταυτοποίηση του παθογόνου όσο και στην αξιολόγηση της ευαισθησίας του στα αντιβιοτικά.

Οι μοριακές τεχνικές, συγκεκριμένα η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR), με βασική αρχή την ανίχνευση του γενετικού υλικού των βακτηρίων, θεωρητικά, θα μπορούσαν να ξεπεράσουν τους ανωτέρω περιορισμούς αυξάνοντας την ευαισθησία και μειώνοντας το χρόνο έως το αποτέλεσμα. Μια από τις παραλλαγές της PCR είναι η πολυπλεκτική (multiplex), με χαρακτηριστικό την δυνατότητα ταυτοποίησης άλλοτε άλλου αριθμού παθογόνων σε επίπεδο γένους ή είδους, σε σύντομο χρονικό διάστημα. Στην κλινική πράξη, τα περισσότερα δεδομένα για αυτή τη μέθοδο προέρχονται από μελέτες στη σήψη και παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια. Πιο αναλυτικά, στις διάφορες μελέτες, έχοντας ως αναφορά τις συμβατικές καλλιέργειες, η ευαισθησία της multiplex PCR κυμαίνεται στο 20-100%, η ειδικότητα στο 71-99% [14-16] και η συμφωνία με τις καλλιέργειες στο 40-89.5%.[17] Το πιο ελκυστικό χαρακτηριστικό της είναι η ταυτοποίηση του παθογόνου κατά μέσο όρο 18 ώρες νωρίτερα από τις καλλιέργειες.[18]

Στο πεδίο της κίρρωσης, η παρουσία βακτηριακού δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (bacterial deoxyribonucleic acid, bactDNA) στο αίμα ή το ασκίτικό υγρό έχει μελετηθεί τόσο ως δείκτης δυσμενούς έκβασης όσο και ως εργαλείο για την ταυτοποίηση παθογόνων σε ασθενείς με πολυμορφοκυτταρική ασκίτη. Πιο αναλυτικά, η ανίχνευση bactDNA στο περιτοναϊκό υγρό έχει συσχετιστεί με το φαινόμενο της βακτηριακής διαμετάθεσης και συνοδεύεται από έκδηλη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση.[19] Επιπλέον, σε κίρρωτικούς ασθενείς χωρίς λοίμωξη, η ανίχνευση bactDNA στο αίμα ή το ασκίτικό υγρό συσχετίστηκε με εκδήλωση οξείας-επί-χρονίας ηπατικής ανεπάρκειας και πτωχότερη έκβαση.[20] Κατά άλλους ερευνητές, σε ασθενείς χωρίς λοίμωξη, η παρουσία bactDNA συσχετίστηκε με αυξημένο σχετικό κίνδυνο θανάτου, ηπατονεφρικού συνδρόμου και ΑΒΠ.[21] Αντίθετα, σε ασθενείς με υποψία λοίμωξης ή επιβεβαιωμένη λοίμωξη, η ανίχνευση του δε συσχετίστηκε με την επιβίωση.[22,23] Σε ασθενείς που επιβίωσαν από επεισόδιο ΑΒΠ, ο ρόλος του bactDNA ως προγνωστικού δείκτη δεν έχει ακόμη μελετηθεί.

Για την ταυτοποίηση παθογόνων στην ΑΒΠ, υπάρχει επίσης εκτενής βιβλιογραφία. Οι περισσότεροι ερευνητές εφάρμοσαν PCR πραγματικού χρόνου (real time PCR) στοχευμένη ή ευρέος φάσματος. Τα αποτελέσματα ήταν ιδιαίτερα αντιφατικά καθώς η ευαισθησία κυμάνθηκε στο 3-83%. Επιπλέον, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, η ειδικότητα της μεθόδου ήταν χαμηλή, καθώς οδήγησε στην ανίχνευση *bactDNA* σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με μη πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη.[24-31]

Αντιθέτως, η χρήση multiplex PCR έχει μερικώς μόνο μελετηθεί, σε περιορισμένο αριθμό ασθενών. Συγκεκριμένα, για την ΑΒΠ στη βιβλιογραφία υπάρχουν 3 μελέτες, με 18,[32] 11[22] και 42[23] ασθενείς με πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη, εκ των οποίων μικρός αριθμός είχε θετική καλλιέργεια ασκίτικού υγρού [27.7% (5/18), 45.5% (5/11) και 38.1% (16/42), αντιστοίχως].

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση μιας εμπορικά διαθέσιμης μεθόδου πολυπλεκτικής PCR με δυνατότητα ταυτοποίησης 25 παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων 6 είδη μυκήτων, 9 gram θετικών κόκκων και 10 gram αρνητικών βακτηρίων [32], ως δείκτη για την ταχεία και ακριβή ταυτοποίηση παθογόνων σε ασθενείς με ΑΒΠ. Επιπλέον, μελετήθηκε η προγνωστική αξία της ανίχνευσης *bactDNA* στην έκβαση ασθενών με ΑΒΠ κατά τη διάρκεια και μετά την αποδρομή του επεισοδίου ΑΒΠ.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Λοιμώξεις στην κίρρωση

1.1 Επιδημιολογία

Η επίπτωση των λοιμώξεων στους νοσηλευόμενους κίρρωτικούς ασθενείς εκτιμάται στο 25-35%. [33,34] Αναφορικά με το χρόνο εκδήλωσης και την πηγή της λοίμωξης, οι συνηθέστερες λοιμώξεις είναι οι νοσοκομειακές, στο 36% του συνόλου, που ορίζονται ως οι λοιμώξεις μετά τις πρώτες 48 ώρες από την εισαγωγή του ασθενούς και οι σχετιζόμενες με τις υπηρεσίες υγείας, σε ποσοστό 32%, οι οποίες ορίζονται ως λοιμώξεις προ της εισαγωγής ή εντός των 2 πρώτων ημερών, σε ασθενείς που ήρθαν σε επαφή με το περιβάλλον του νοσοκομείου εντός των τελευταίων 3 μηνών. Ακολουθούν σε συχνότητα οι λοιμώξεις της κοινότητας με ποσοστό 32%. [35-37]

Ο ρόλος της αιτιολογίας της κίρρωσης ως προς την ευπάθεια στις λοιμώξεις παραμένει ασαφής. Σε μελέτη των Rosa et al [38] σε 382 κίρρωτικούς ασθενείς (201 με κίρρωση αλκοολικής αιτιολογίας), οι λοιμώξεις ήταν συχνότερες σε ασθενείς με Child-Pugh C σε σύγκριση με εκείνους με A ή B ($P = 0.003$, $P = 0.0002$ αντίστοιχα). Το είδος της κίρρωσης σχετιζόταν με την επίπτωση λοίμωξης για τα στάδια Child Pugh A και B, με τους ασθενείς με αλκοολική κίρρωση να εμφανίζουν συχνότερα λοιμώξεις ($P = 0.02$) αλλά όχι και υψηλότερη θνητότητα ($P = 0.1$). Αντίθετα, για το στάδιο Child-Pugh C, δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων αναφορικά με την επίπτωση λοίμωξης ($P = 0.8$) ή τη θνητότητα ($P = 0.8$). Στα ίδια συμπεράσματα καταλήγει και άλλη μελέτη [39] σε 633 κίρρωτικούς ασθενείς (363 αλκοολικής αιτιολογίας, 270 μη αλκοολικής) σύμφωνα με την οποία οι λοιμώξεις δεν ήταν συχνότερες στους ασθενείς με αλκοολική κίρρωση. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η ομάδα της

αλκοολικής κίρρωσης, διέφερε ως προς την αυξημένη επίπτωση πνευμονίας και λοίμωξης από gram θετικά βακτήρια ενώ τα ποσοστά ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ήταν υψηλότερα

Άλλη μελέτη των Lounet et al [40] σε 246 ασθενείς με αλκοολική ηπατίτιδα, αναδεικνύει επίπτωση λοίμωξης στην εισαγωγή σε ποσοστό 25.6%, στο εύρος δηλαδή που καταδεικνύει η βιβλιογραφία για το σύνολο των κίρρωτικών ασθενών.

Ως αιτίες θανάτου από μετα-ανάλυση σε κίρρωτικούς ασθενείς με λοίμωξη, αναγνωρίζονται η ηπατική ανεπάρκεια (34.2%), η σήψη (33.4%) η αιμορραγία πεπτικού (16.1%), το ηπατονεφρικό σύνδρομο (9.6%), ο καρκίνος (2.2%), η καρδιαγγειακή νόσος (1.4%), η πολυοργανική ανεπάρκεια (0.6%) και άλλα/άγνωστα αίτια στο 4%. [4]

Πολλές μελέτες έχουν ήδη διενεργηθεί για την αποσαφήνιση των παραγόντων κινδύνου ανάπτυξης λοίμωξης, με τα έως τώρα αποτελέσματα να είναι συχνά αντικρουόμενα. Πιο αναλυτικά, κατά τους Merli et al [36], σε μελέτη δείγματος 150 νοσηλευόμενων ασθενών με κίρρωση ήπατος, ως παράγοντες κινδύνου αναγνωρίστηκαν η ύπαρξη λοίμωξης τους προηγούμενους 12 μήνες ($P < 0.0001$), η τιμή MELD ≥ 15 ($P = 0.001$) και τα χαμηλά επίπεδα λευκωματινών ορού ($P = 0.004$). Μάλιστα, ο αυξημένος αριθμός παρεμβάσεων ($P=0.02$) και η νοσηλεία σε θαλάμους με πολλαπλές κλίνες ($P = 0.0002$), αποτελούσαν παράγοντες κινδύνου νοσοκομειακής λοίμωξης.[36] Άλλη μελέτη των Deschênes et al [41] σε 140 κίρρωτικούς ασθενείς, κατέδειξε την αιμορραγία πεπτικού ως αιτία εισαγωγής και τα χαμηλά επίπεδα λευκωματίνης ορού ως ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης λοίμωξης κατά τη νοσηλεία. Κατά τους Borzio et al [42] σε μελέτη σε 361 κίρρωτικούς ασθενείς, οι λοιμώξεις της κοινότητας παρουσίαζαν συσχέτιση με τη βαρύτητα της ηπατικής νόσου, συγκεκριμένα το στάδιο Child-Pugh ($P < 0.05$) και την επηρεασμένη νεφρική λειτουργία ($P < 0.05$). Στην ίδια μελέτη, οι νοσοκομειακές λοιμώξεις συσχετίστηκαν με την αιμορραγία πεπτικού ($P < 0.05$). Σε μελέτη των Yoneyama et al [43] σε 325 κίρρωτικούς ασθενείς με και χωρίς ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (ΗΚΚ), στην πολυπαραγοντική ανάλυση ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου

ανάπτυξης λοίμωξης ήταν η ύπαρξη χαμηλών επιπέδων λευκωματίνης ορού ($0 < 0.01$). Αντίθετα, το στάδιο Child-Pugh ($P = 0.641$), το ΗΚΚ ($P = 0.608$) αλλά και η αιτιολογία της κίρρωσης ($P = 0.173$) δεν είχαν στατιστικά σημαντική επίδραση στην επιβίωση.

1.2. Τύποι λοιμώξεων

Οι συνηθέστερες εστίες λοίμωξης είναι η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα (ΑΒΠ) (25-31%) [44,45], οι λοιμώξεις ουροποιητικού (20-25%), η πνευμονία (15-21%), [44,46] η αυτόματη βακτηριαιμία (12%) [44] και οι λοιμώξεις μαλακών μορίων (11%). [44,47]

Αναφορικά με τα είδη των μικροοργανισμών, καθώς ο βασικός παθοφυσιολογικός μηχανισμός επαγωγής της λοίμωξης είναι η μετατόπιση της εντερικής χλωρίδας, μέχρι πρόσφατα τα gram αρνητικά βακτήρια απομονούνταν κατά πλειοψηφία, σε ποσοστό 75%-80%. [48] Ακολουθούσαν τα gram θετικά στο 20%, τα αναερόβια στο 3% [49] και οι μύκητες, ιδίως τα είδη candida, στο 4-10%. [50,51]

Με την πάροδο του χρόνου παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδημιολογικές αλλαγές. Η πρώτη αφορά την ανάπτυξη ανθεκτικών στην κινολόνη στελεχών σε ασθενείς που λαμβάνουν χρόνια προφύλαξη με τα συγκεκριμένα αντιβιοτικά. Σε μελέτη των Dupeyron et al [52], το 50% των ασθενών ανέπτυξε ανθεκτικά στελέχη σε καλλιέργειες κοπράνων, σύντομα μετά την έναρξη προφυλακτικής αγωγής με νορφλοξασίνη. Κατά τους Ortiz et al [53] σε δείγμα 99 κίρρωτικών ασθενών με λοίμωξη από *Escherichia coli*, η μακροχρόνια αγωγή με νορφλοξασίνη σχετίζεται με την ανάπτυξη λοίμωξης από ανθεκτικά στελέχη, εύρημα βέβαιο που δε σχετίστηκε με διαφορά στην ολική επιβίωση, καθώς τα στελέχη παρουσίαζαν ευαισθησία στην κεφοταξίμη.

Η δεύτερη σημαντική αλλαγή αφορά την αύξηση του ποσοστού των λοιμώξεων από gram θετικούς μικροοργανισμούς, ιδίως από *Staphylococcus aureus*. [54,55] Σε μελέτη σε δείγμα 405 κίρρωτικών ασθενών με 572 διαπιστωμένες λοιμώξεις [56], gram θετικά βακτήρια απομονώθηκαν στο 53% του συνόλου και στο 59% των νοσοκομειακών λοιμώξεων. Πλέον,

υπολογίζεται ότι το 60% των νοσοκομειακών λοιμώξεων οφείλεται σε gram θετικά βακτήρια.[48] Η νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας (77% έναντι 48%, $p < 0.001$) και οι επεμβατικές διεργασίες όπως η τοποθέτηση κεντρικών φλεβικών καθετήρων, η περίδεση κιρσών οισοφάγου, η τοποθέτηση διασφαγιτιδικής ενδοηπατικής πυλαιοσυστηματικής αναστόμωσης και ο χημειοεμβολισμός (58% έναντι 40%, $P < 0.02$) συσχετίστηκαν με αύξηση του κινδύνου λοίμωξης από gram θετικά βακτήρια. [56] Στις λοιμώξεις της κοινότητας, τα gram αρνητικά κατέχουν ακόμα την πρώτη θέση, με ποσοστό που υπολογίζεται στο 60%.[35]

Η βασικότερη μεταβολή αφορά την αύξηση του ποσοστού των πολυανθεκτικών μικροβίων (multiresistant bacteria, MR), των εξαιρετικά ανθεκτικών στελεχών (extensively resistant – XR) αλλά και των πανανθεκτικών (pandrug resistant, PDR). Ως MR, ορίζονται τα βακτήρια με ανθεκτικότητα σε 3 ή περισσότερες από τις βασικές οικογένειες αντιβιοτικών, συμπεριλαμβανομένων των β – λακταμικών [48], ως XR αυτά με ανθεκτικότητα σε ≥ 1 παράγοντα σε όλες εκτός από ≤ 2 κατηγορίες αντιβιοτικών και ως PDR τα ανθεκτικά σε όλα τα διαθέσιμα αντιβιοτικά.[57,58] Τα συχνότερα εξ αυτών είναι τα gram αρνητικά με έκφραση ευρέος φάσματος βήτα-λακταμασών (extended-spectrum β -lactamase producing, ESBL), ο ανθεκτικός στη μεθικιλίνη *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), τα ανθεκτικά στις κινολόνες gram αρνητικά βακτήρια (flouoroquinolone-resistant, QR) και ο ανθεκτικός στη βανκομυκίνη *Enterococcus* (vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE). Ως παράγοντες κινδύνου, θεωρούνται οι προηγηθείσες νοσοκομειακές ή σχετιζόμενες με δομές υγείας λοιμώξεις, η πρόσφατη λοίμωξη με MR βακτήριο, η μακρόχρονη προφυλακτική αγωγή με νορφλοξασίνη, η πρόσφατη χρήση β -λακταμικών τους τελευταίους 3 μήνες, η συστηματική χορήγηση αντιβιώσεων τις τελευταίες 30 ημέρες, ο σακχαρώδης διαβήτης και η αιμορραγία ανωτέρου πεπτικού.[48,59]

Πλέον, τα DR μικρόβια ευθύνονται για το 35-39% των νοσοκομειακών λοιμώξεων, το 14-20% των σχετιζόμενων με τις υπηρεσίες υγείας και το 0-4% των λοιμώξεων κοινότητας.[60] Σε

παγκόσμιο επίπεδο, τα DR είναι υπεύθυνα για το 34% των λοιμώξεων στην κίρρωση, με τα υψηλότερα ποσοστά να καταγράφονται στην Ασία και τη Νότιο Αμερική.[61,62] Ενδεικτικά, σε μονοκεντρική μελέτη από την Ισπανία, παρατηρήθηκε αύξηση των DR από το <10% την περίοδο 1998-2000, στο 23% την περίοδο 2010-2011.[63] Σε άλλη μελέτη κίρρωτικών ασθενών από την Ιταλία, παρατηρήθηκε αύξηση του επιπολασμού των ΧDR/PDR από το 16% το 2008-2009 στο 36% το 2012-2013.[64,65] Παρόμοια, σε πρόσφατη Ευρωπαϊκή μελέτη, το ποσοστό MDR αυξήθηκε από το 29% στο 38% την περίοδο 2011-2018.[66]

Ως συνέπεια των ανωτέρω, η έως τώρα συνιστώμενη εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή έχει καταστεί αναποτελεσματική έως και στο 60% των νοσοκομειακών λοιμώξεων.[66] Χαρακτηριστικά, σύμφωνα με πολυκεντρική μελέτη σε κίρρωτικούς ασθενείς με διάφορα ήδη λοίμωξης, για τις λοιμώξεις τις σχετιζόμενες με υπηρεσίας υγείας, τα ποσοστά αντοχής υπολογίζονται για τις κεφαλοσπορίνες 3 γενιάς στο 37% στην Ευρώπη, 38% στην Βόρεια Αμερική, 19% στη Νότιο Αμερική και 52% στην Ασία. Για την πιπερακιλλίνη-ταζοβακτάμη τα αντίστοιχα ποσοστά είναι 26%, 19%, 19% και 52%, αντιστοίχως και για τις καρβαπενέμες 13%, 9%, 0% και 29%, αντιστοίχως. Για τις νοσοκομειακές λοιμώξεις τα αντίστοιχα ποσοστά είναι για τις κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς 38%, 37%, 42% και 69%, την πιπερακιλλίνη-ταζοβακτάμη 27%, 10%, 25% και 52% και για τις καρβαπενέμες 14%, 10%, 25% και 38%.[62]

Όμως, τονίζεται ότι η επιδημιολογία των MR διαφέρει μεταξύ των χωρών, ακόμα όμως και μεταξύ νοσοκομείων της ίδιας περιοχής. Επομένως, για τη χορήγηση εμπειρικής αντιμικροβιακής αγωγής, είναι ουσιώδους σημασίας η γνώση της επιδημιολογίας στο εκάστοτε νοσοκομειακό ίδρυμα.[48]

1.3. Φυσιολογία της ανοσιακής απάντησης στην κίρρωση

1.3.α Βακτηριακή μετατόπιση

Ο όρος βακτηριακή μετατόπιση (αλόθεση, διαμετάθεση, bacterial translocation, BT) αναφέρεται στη μετακίνηση ζώντων μικροοργανισμών της εντερικής χλωρίδας, τμημάτων τους όπως το βακτηριακό γενετικό υλικό ή τμήματα του τοιχώματος τους ή παραγώγων τους όπως οι ενδοτοξίνες, από τον εντερικό αυλό στους μεσεντέριους λεμφαδένες και στη συνέχεια στην περιτοναϊκή κοιλότητα και στη συστηματική κυκλοφορία.[44]

Για την τεκμηρίωση της διάγνωσης απαιτείται βιοψία και καλλιέργεια μεσεντέριου λεμφαδένα. Για το λόγο αυτό, δεν υπάρχουν επιδημιολογικά δεδομένα για το γενικό πληθυσμό ή τους μη χειρουργικούς ασθενείς. Σύμφωνα όμως με μελέτες σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργείο κοιλίας για ποικίλες αιτίες, ο επιπολασμός της βακτηριακής μετατόπισης ανέρχεται στο 5-20%, με το ποσοστό να αυξάνεται επί εντερικής απόφραξης, εντερικής φλεγμονής ή ανοσοκαταστολής.[67,68] Αν και τα δεδομένα προέρχονται από ιδιαίτερα περιορισμένο αριθμό μελετών, στον εν λόγω πληθυσμό η BT φαίνεται πως συσχετίζεται με αυξημένη νοσηρότητα, κυρίως με αυξημένο ποσοστό ενδονοσοκομιακών λοιμώξεων, αλλά όχι με αυξημένη θνητότητα.[69]

Στην κίρρωση του ήπατος, η BT φαίνεται πως συμβαίνει συχνότερα και σε μεγαλύτερη ένταση και συσχετίζεται με την εμφάνιση επιπλοκών της βασικής ηπατικής νόσου.[70] Πιο συγκεκριμένα, σε μετατόπιση ζώντων μικροοργανισμών, προκαλείται αυτόματη μικροβιαμία και αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα. Στην περίπτωση των παραγώγων των μικροοργανισμών, το τελικό αποτέλεσμα είναι η πρόκληση «στείρας» φλεγμονής, με αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Η φλεγμονώδης αντίδραση έχει άμεσες συνέπειες στη διαταραχή της εύθραυστης αιμοδυναμικής ισορροπίας των κίρρωτικών ασθενών, προκαλώντας

μείωση του δραστικού ενδαγγειακού όγκου και αυξάνοντας την πυλαία υπέρταση, οδηγώντας στην εμφάνιση επιπλοκών όπως το ηπατονεφρικό σύνδρομο και η κίρρωση.[71]

Πληθώρα παραγόντων έχει σχετιστεί με την παθοφυσιολογία του φαινομένου, που αδρά χωρίζονται σε 3 κατηγορίες: βακτηριακή υπερανάπτυξη, αυξημένη διαπερατότητα του εντερικού αυλού και διαταραχή στην τοπική και συστηματική ανοσία.[72]

Η βακτηριακή υπερανάπτυξη είναι συχνότερη στην κίρρωση σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Πιο συγκεκριμένα, βακτηριακή υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου (small intestinal bacterial overgrowth, SIBO), παρατηρείται στο 48-73% των ασθενών με κίρρωση.[70] Μεταξύ των κίρρωτικών, είναι συχνότερη στα προχωρημένα στάδια της νόσου και στην ύπαρξη ασκίτικης συλλογής.[73] Η SIBO αυξάνει την πιθανότητα ΒΤ, αλλά δεν αρκεί ως μεμονωμένος παράγοντας για την επαγωγή της, καθώς το 50% των ασθενών με SIBO δεν έχουν ενδείξεις ΒΤ.[70] Παράγοντες που σχετίζονται με τη βακτηριακή υπερανάπτυξη στην κίρρωση είναι η μειωμένη εντερική κινητικότητα [74], τα μειωμένα επίπεδα χολικών οξέων [75] και η μείωση του γαστρικού Ph είτε λόγω της υποχλωρυδρίας που συνοδεύει την κίρρωση [76] είτε λόγω αγωγής με αναστολείς διαύλων πρωτονίων.[77]

Αναφορικά με την αυξημένη διαπερατότητα, στον εντερικό αυλό μια μονήρης στιβάδα επιθηλιακών κυττάρων διαχωρίζει τον ξενιστή από το πλήθος ζώντων βακτηρίων. Στην κίρρωση, ο επιθηλιακός φραγμός χάνει τη στεγανότητα του καθώς ο εντερικός αυλός παρουσιάζει υπεραίμια, οίδημα, υποβλεννογόνια φλεγμονή και τελικά αύξηση των μεσοκυττάρων διαστημάτων.[72] Η αιτία για τις ανωτέρω μεταβολές δεν έχει αποσαφηνιστεί αλλά πιθανώς σχετίζονται με την πυλαία υπέρταση και την σπλαχνική αγγειοδιαστολή που συνοδεύουν τη βασική νόσο.[72] Στην αύξηση των διακυτταρικών χασμάτων, πέραν του άμεσου μηχανικού stress, συμβάλλει και η μείωση της έκφρασης πρωτεϊνών των διακυτταρικών συνδέσεων όπως η οκλουδίνη και η κλαουδίνη-1.[78] Για τη μετατόπιση ζώντων βακτηρίων, ενδέχεται να είναι σημαντική και η διάβαση διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων μέσω

κυτταρικών μονοπατιών που ενεργοποιούνται από τη φλεγμονώδη αντίδραση και το κυτταρικό stress. Ο εν λόγω μηχανισμός έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά σε κυτταροκαλλιέργειες αλλά δεν έχει μελετηθεί στην κίρρωση.[79]

Αναφορικά με την τοπική ανοσιακή απάντηση, τα επιθηλιακά κύτταρα, πέραν του ότι αποτελούν φυσικό, μηχανικό φραγμό, εκφράζουν παράγοντες όπως η ανοσοσφαιρίνη IgA (immunoglobulin A, IgA), η βλέννα και τα φυσικά αντιμικροβιακά πεπτιδία (antimicrobial peptides, AMPs) που επίσης συμμετέχουν στην πρώτη γραμμή άμυνας. Στην κίρρωση παρατηρείται μειωμένη έκφραση της IgA, που υπό φυσιολογικές συνθήκες προσδένει αποτελεσματικά και εξουδετερώνει βακτήρια. Υπάρχει επίσης μείωση στην έκκριση συγκεκριμένων AMPs, όπως οι α-ντεφενσίνες με φυσική αντιμικροβιακή δράση ιδίως έναντι των *Enterobacteriae* [80] και οι πρωτεΐνες RegIIIβ και RegIIIγ, πρωτεΐνες της οικογένειας της λεκτίνης με δράση έναντι των gram θετικών βακτηρίων ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις.[81]

1.3.β Διαταραχή στην ομοιοστασία της συστηματικής ανοσιακής απάντησης

Οι κίρρωτικοί ασθενείς παρουσιάζουν διαταραχή στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, με αποτέλεσμα ευπάθεια στις λοιμώξεις αλλά και παθολογική ανοσολογική απάντηση σε αυτές. Χαρακτηριστικό της νόσου είναι ο συνδυασμός ανοσοπάρεσης και αυξημένων επιπέδων προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί τα τελευταία έτη αντικείμενο έρευνας και χαρακτηρίζεται ως σχετιζόμενη με την κίρρωση ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος (cirrhosis-associated immune dysfunction syndrome).[82]

Πιο συγκεκριμμένα, στο ήπαρ εδράζεται το 90% των κυττάρων του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ), όπως τα κύτταρα Kupffer και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών, που κατέχουν κεντρικό ρόλο στην κάθαρση των βακτηρίων. Στην κίρρωση, οι πυλαιοσυστηματικές αναστομώσεις που επιτρέπουν σε μεγάλο όγκο αίματος να παρακάμπτει το ήπαρ αλλά και ο

ελαττωμένος αριθμός κυττάρων του ΔΕΣ, οδηγούν σε μειωμένη κάθαρση βακτηριδίων και ενδοτοξινών.[83]

Επιπλέον, οι ασθενείς με κίρρωση παρουσιάζουν ελάττωση του αριθμού και της λειτουργικότητας των ουδετερόφιλων, που επιδεινώνονται με την εξέλιξη της ηπατικής νόσου.[84] Πολλαπλοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στις έως τώρα μελέτες. Η τουφτσίνη, φυσικό τετραπεπτίδιο που επάγει τη φαγοκυττάρωση, παρουσιάζει μειωμένα επίπεδα στην κίρρωση, ανεξαρτήτως της αιτιολογίας αυτής, ιδιαίτερα στα προχωρημένα της στάδια.[85] Η φωσφολιπάση C παρουσιάζει μειωμένη λειτουργικότητα αποτελώντας την αιτία της μειωμένης ικανότητας των ουδετερόφιλων για παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου και κατά συνέπεια της δυσλειτουργία τους φυσικού μονοπατιού άμυνας υπεροξειδίου του υδρογόνου-μυελοϋπεροξειδάσης-χλωρίου. Έτσι, η ικανότητα επαγωγής ενδοκυττάρου θανάτου εμφανίζεται περιορισμένη.[86,87] Επιπρόσθετα, η υπεραμμωναιμία και η υπονατριαιμία, συχνές στους κίρρωτικούς, σε *in vitro* μελέτη δρουν συνεργικά μεταβάλλοντας την ωσμωτικότητα πλάσματος και κατ' επέκταση τον όγκο των ουδετερόφιλων και επηρεάζοντας την ικανότητα φαγοκυττάρωσης.[88] Τέλος, η επιβίωση των ουδετερόφιλων είναι μειωμένη εξαιτίας του υπερσπληνισμού και της αυξημένης απόπτωσής τους.[89] Η αιτιολογία δεν έχει αποσαφηνιστεί, αλλά ενδέχεται να ερμηνεύεται εν μέρει από τα χαμηλά επίπεδα αντιγόνου Fas, καθώς το σύστημα Fas/Fas συνδέτη εμπλέκεται σαφώς στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου των ουδετερόφιλων.[89] Παράλληλα, στην κίρρωση παρατηρείται μειωμένη οφονοποίηση στον ορό και στο ασκίτικό υγρό.[83] Οι κίρρωτικοί ασθενείς έχουν μειωμένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών IgG, IgM IgA στο ασκίτικό υγρό [90], και χαμηλότερα επίπεδα C3 και C4 στο ασκίτικό υγρό και στον ορό, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη βακτηριοκτόνο ικανότητα.[91]

Επιπλέον, συχνά συνυπάρχουν παράγοντες με πρόσθετη, ανεξάρτητη των ανωτέρω συμβολή στην παθογένεια της φυσικής ανοσίας. Τέτοιοι είναι η υποθρεψία και η κατάχρηση αιθυλικής αλκοόλης, λόγω κατασταλτικής δράσης στην κυτταρική ανοσία.[83,92] Ειδικά για το

αλκοόλ, η οξεία αλλά και χρόνια κατάχρηση σχετίζεται με δυσλειτουργία των Β και Τα λεμφοκυττάρων, των κυττάρων φυσικών φονέων και των μακροφάγων.[93] Επίσης, σε μελέτη σε ασθενείς με αλκοολική κίρρωση, αναδεικνύεται η σαφής επίδραση του στην μειωμένη ικανότητα φαγοκυττάρωσης των μακροφάγων, καθώς η λειτουργικότητα του υποδοχέα Fcγ, υποδοχέα με κεντρικό ρόλο στην αναγνώριση αντιγόνων, είναι σαφώς μειωμένη, σε βαθμό μάλιστα που σχετίζεται με τη βαρύτητα της υποκείμενης ηπατικής νόσου **(Εικόνα 1)**.[94]

Στον αντίποδα, ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της κίρρωσης είναι η εκσεσημασμένη φλεγμονώδης αντίδραση όπως αυτή εκφράζεται με την παρουσία υψηλών επιπέδων προφλεγμονωδών κυτταροκινών.[95] Στην αντιρροπούμενη και τη μη αντιρροπούμενη κίρρωση ήπατος, τα επίπεδα των κυτταροκινών ιντερλευκίνης – 6 (Interleukin -6, IL-6), ιντερλευκίνης – 7, ιντερλευκίνης – 8, ιντερλευκίνης-12 και του παράγοντα νέκρωσης όγκου-α (Tumor necrosis factor-α, TNF-α), παρουσιάζονται αυξημένα.[95] Η αύξηση αυτή, σχετίζεται με την πρόοδο της ηπατικής νόσου.[95] Παράλληλα, οι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως όπως η ιντερλευκίνη-10, η ιντερλευκίνη – 4, η ιντερλευκίνη-13, η προσταγλανδίνη E2 και η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C αδυνατούν να αναστείλουν τη δράση των εκκινητών της φλεγμονής. Οι μεταβολές αυτές είναι πιο έκδηλες σε καταστάσεις λοίμωξης και επάγουν την εμφάνιση πλήθους επιπλοκών από το καρδιαγγειακό σύστημα, το κεντρικό νευρικό σύστημα, το αναπνευστικό αλλά και την πήξη **(Εικόνα 2)**.[34]

1.3.γ Γενετικοί παράγοντες

Η μειωμένη ανοσιακή απάντηση, πέραν των μηχανισμών που αναφέρθηκαν, πιθανώς έχει και γενετικό υπόβαθρο. Παράδειγμα αποτελεί ο υποδοχέας Toll-like 2 (Toll-like receptor 2, TLR2) που εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη των μακροφάγων και άλλων κύτταρων του ανοσοποιητικού συστήματος και αναγνωρίζει διακριτά μόρια σχετιζόμενα με παθογόνα (pathogen-associated molecular patterns, PAMS), συγκεκριμένα, παράγωγα των gram θετικών βακτηρίων, όπως οι πεπτιδογλυκάνες.[96] Σύμφωνα με μελέτη σε κίρρωτικούς ασθενείς με

ασκίτη, συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί του γονιδίου του συγκεκριμένου υποδοχέα (γονότυπος TLR2-16934 TT, ομοζυγωτία TLR2-GT), σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο βακτηριακής μετατόπισης και εκδήλωσης αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας. [70,96]

Έτερο γονίδιο που συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΑΒΠ είναι το γονίδιο της Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2), επίσης γνωστής ως caspase recruitment domain-containing protein 15 (CARD15). Η εν λόγω πρωτεΐνη εκφράζεται από τα μονοκύτταρα και τα κύτταρα Paneth και αναγνωρίζει επίσης πεπτιδογλυκάνες. Μεταλλάξεις στο γονίδιο της NOD2 (μετάλλαξη 1007fs, R702W, G908R) οδηγούν σε βακτηριακή υπερανάπτυξη από δυσλειτουργία των κυττάρων Paneth και μειωμένη έκφραση φυσικών αντιμικροβιακών πεπτιδίων όπως και σε μειωμένη φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροκυττάρων.[70,97]

1.4 Πρόγνωση λοιμώξεων στην κίρρωση

Οι λοιμώξεις σε κίρρωτικούς ασθενείς σχετίζονται σαφώς με δυσμενέστερη πρόγνωση, αυξάνοντας την θνητότητα κατά 3.75 φορές.[4] Η θνητότητα υπολογίζεται στο 26-44% τον πρώτο μήνα από τη διάγνωση λοίμωξης και στο 63% στο ένα έτος.[33] Αξίζει να σημειωθεί ότι σύμφωνα με μετα-ανάλυση,[4] η θνητότητα στις 30 ημέρες παρουσιάζει μείωση τα τελευταία έτη. Ενδεικτικά, μεταξύ 1978-1999, η θνητότητα στις 30 ημέρες υπολογίζεται στο 37.3%, έναντι 26% την περίοδο 2000-2009 ($P = 0.01$). Αντίθετα, η ολική θνητότητα στο ένα έτος, δε διαφέρει σημαντικά, υπολογιζόμενη στο 69.7% και 60% αντίστοιχα ($P = 0.6$)

Πέραν της θνητότητας, η λοίμωξη οδηγεί σε επιβάρυνση της ηπατικής λειτουργίας στην πλειοψηφία των ασθενών.[36] Ενδεικτικά, σύμφωνα με μελέτη [36] το score Child – Pugh παρουσιάζει μέση αύξηση 1.9 μονάδες στο 62% των ασθενών με λοίμωξη και 2.5 μονάδες στο 71% των ασθενών με σήψη. Στους ίδιους ασθενείς, παρατηρείται αύξηση του MELD score κατά

3.8 μονάδες ενώ στη σήψη κατά 4.9. Παράλληλα, είναι σαφής η συσχέτιση με την εκδήλωση οξείας ρήξης της αντιρρόπησης με εμφάνιση επιπλοκών της βασικής νόσου όπως ο ασκίτης, η εγκεφαλοπάθεια και το ηπατονεφρικό σύνδρομο.[36]

Οι παράγοντες κινδύνου για τη θνητότητα κατά τη διάρκεια ή μετά το πέρας της λοίμωξης χωρίζονται αδρά σε 3 κατηγορίες: τη βαρύτητα της υποκείμενη ηπατικής νόσου όπως εκφράζεται από τα βαθμολογικά συστήματα (score) Child –Pugh ή MELD και τις επιπλοκές αυτής (γαστρεντερική αιμορραγία, εγκεφαλοπάθεια, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα), την ανεπάρκεια οργάνων εκτός του ήπατος με προεξάρχουσα τη νεφρική ανεπάρκεια και τέλος το είδος και η βαρύτητα των λοιμώξεων με έμφαση στις νοσοκομειακές λοιμώξεις και τις λοιμώξεις από ανθεκτικά βακτήρια και την εκδήλωση σήψης. [98]

Τα score Child – Pugh και MELD σε πολλαπλές μελέτες καταδεικνύονται ως ανεξάρτητοι δείκτες πρόγνωσης θνητότητας στη λοίμωξη.[4] Ωστόσο, η συμβολή της λοίμωξης είναι ίσως ο πλέον καθοριστικός παράγοντας. Ενδεικτικό είναι το γεγονός ότι η θνητότητα σε ασθενείς με MELD score > 18 υπολογίζεται στο 43% για ασθενείς με σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (Systemic inflammatory response syndrome, SIRS) αλλά στο 12% για ασθενείς χωρίς εκδήλωση του συνδρόμου. Αντίστοιχα, η θνητότητα ένα μήνα μετά από ΑΒΠ, για MELD score \geq 22 παρουσία λευκοκυττάρωσης, υπολογίζεται στο 52% έναντι ποσοστού 30% απουσία αυτής.[33]

Αναφορικά με τη σημασία της οξείας νεφρικής βλάβης, η θνητότητα αυξάνεται με την εκδήλωση αυτής (34% θνητότητα στις 90 ημέρες παρουσία της έναντι 7% απουσία αυτής), τη βαρύτητα της (ενδονοσοκομειακή θνητότητα 2%, 7% και 21% για τα στάδια 1, 2 και 3 αντίστοιχα) και την πορεία αυτής (θνητότητα στις 90 ημέρες 80% σε παραμονή ή επιδείνωση της νεφρικής βλάβης, 40% σε μερική βελτίωση και 15% σε πλήρη αποδρομή).[33]

Ειδικά για τις νοσοκομειακές λοιμώξεις, η ενδονοσοκομειακή θνητότητα εκτιμάται στο 25-48%, όντας σημαντικά υψηλότερη από την παρατηρούμενη στις συνδεόμενες με τις δομές

υγείας λοιμώξεις (9-23%) και τις λοιμώξεις στην κοινότητα (7-21%).[35] Ασθενείς με MDR λοιμώξεις έχουν υψηλότερη επίπτωση σηπτικού shock, ανάγκη νοσηλείας σε μονάδα εντατικής θεραπείας, και υψηλότερη επίπτωση νεφρικής δυσλειτουργίας. Παρουσιάζουν επίσης υψηλότερη ενδονοσοκομειακή θνητότητα και υψηλότερη θνητότητα 28 ημερών (29% vs 20%; $p = 0.014$).[99]

Τέλος, η εκδήλωση συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (systemic inflammatory response syndrome-SIRS), με ή χωρίς σήψη, έχει σχετιστεί σαφώς με την επιβίωση στην κίρρωση. Σε μελέτη των Behroozian et al [100] σε 109 κίρρωτικούς ασθενείς, η εμφάνιση SIRS σχετίζεται με τη βαρύτητα της ηπατικής νόσου όπως εκφράζεται από το MELD score ($P < 0.001$) και αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου θνητότητας ($P < 0.001$). Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν έτερες μελέτες των Cazzaniga et al [101] και Abdel-Khalek et al [102] όπου το SIRS καταδεικνύεται ως παράγοντας κινδύνου εμφάνισης των σχετικών με πυλαία υπέρταση επιπλοκών αλλά και ως παράγοντας κινδύνου για τη θνητότητα. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε μελέτη σε 162 ασθενείς με οξεία αλκοολική ηπατίτιδα, η θνητότητα στις 90 ημέρες στους ασθενείς με SIRS ήταν παρόμοια στις ομάδες με και χωρίς διαπιστωμένη λοίμωξη ($P = 0.503$) και υψηλότερη συγκριτικά με τους ασθενείς που δεν πληρούσαν τα κριτήρια SIRS ($P < 0.01$ και για τις 2).[103]

2. Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα

2.1 Ορισμός, κλινική εικόνα και επιδημιολογία

Η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της κίρρωσης. Αποτελεί λοίμωξη του ασκίτικού υγρού, εν απουσία οποιασδήποτε οξείας ενδοκοιλιακής λοίμωξης ή φλεγμονής.[7] Διαγιγνώσκεται στο 10-30% των ασθενών με μη αντιρροπούμενη κίρρωση και ασκίτη που προσέρχονται στο νοσοκομείο, με το 50% των περιπτώσεων να

διαπιστώνεται κατά την εισαγωγή και το 50% να εκδηλώνεται κατά τη νοσηλεία.[44] Η βακτηριακή μετατόπιση και η διαταραχή της συστηματικής και τοπικής ανοσίας, ιδιαίτερα η μειωμένη οφονοποίηση στο ασκίτικο υγρό, αποτελούν το παθοφυσιολογικό της υπόβαθρο **(Εικόνα 3)**. [34]

Η κλινική της εικόνα περιλαμβάνει πυρετό, κοιλιακό άλγος και συμπτώματα από το γαστρεντερικό σύστημα (εμέτους, διάρροια ή δυσκοιλιότητα). Στο 30-50%, τα συμπτώματα είναι αμβληχρά ή και απουσιάζουν [34,44], ενώ συχνά, προεξάρχουν επιπλοκές της κίρρωσης όπως η κίρρωση, η εγκεφαλοπάθεια και η νεφρική βλάβη.[34] Έτσι, διαγνωστική παρακέντηση συστήνεται σε όλους τους ασθενείς με ασκίτη κατά την εισαγωγή τους αλλά και κατά τη νοσηλεία επί μεταβολής της κλινικής τους εικόνας. [7,34]

Η διάγνωση ABΠ τίθεται με την παρακέντηση της ασκίτικης συλλογής και την εύρεση αυξημένου αριθμού πολυμορφοπύρηνων. Μεγαλύτερη ευαισθησία για τη διάγνωση έχει το όριο των $> 250/\text{mm}^3$ πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, το οποίο χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη. Παρόλα αυτά, η ειδικότητα αυξάνεται με τη χρήση του ορίου των $> 500/\text{mm}^3$. Στην περίπτωση αιμορραγικού ασκίτη, η διόρθωση του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων γίνεται με την αντιστοιχία 1 πολυμορφοπύρηνου ανά 250 ερυθρά αιμοσφαίρια, καθώς αυτός είναι ο μέγιστος αναμενόμενος λόγος στο περιφερικό αίμα υπό φυσιολογικές συνθήκες.[104]

Τα αυξημένα πολυμορφοπύρηννα σε συνδυασμό με τη θετική καλλιέργεια, αποτελούν τον ορισμό της ABΠ. Η μεμονωμένη αύξηση των ουδετερόφιλων χαρακτηρίζεται ως πολυμορφοπυρηνικός ασκίτης, οντότητα που θεωρείται ότι έχει την ίδια πρόγνωση και γιαυτό την ίδια αντιμετώπιση με την ABΠ. Συχνά, ο όρος ABΠ χρησιμοποιείται για να περιγράψει και τις 2 καταστάσεις. Η θετική καλλιέργεια ασκίτικού υγρού χωρίς αύξηση των πολυμορφοπύρηνων χαρακτηρίζεται ως βακτηριοασκίτης. Η κατάσταση αυτή μπορεί να ακολουθήσει καλοήγη πορεία όταν αντανακλά παροδικό αποικισμό του ασκίτικού υγρού ή να εξελιχθεί σε αληθή ABΠ. **(Εικόνα 4)**. [83]

Σημαντική είναι η έγκαιρη διαφορική διάγνωση από τη δευτεροπαθή περιτονίτιδα που αποτελεί το 10% των περιπτώσεων περιτονίτιδας στην κίρρωση. Ισχυρή υποψία τίθεται επί μη ανταπόκρισης στην αντιβιοτική αγωγή, επί απομόνωσης περισσότερων του ενός παθογόνων ιδίως αν αυτά είναι αναερόβια ή μύκητες και επί ύπαρξης τουλάχιστον 2 από τα κάτωθι χαρακτηριστικά της ασκτικής συλλογής: Γλυκόζη <50 mg/dl, ολικά λευκώματα > 10 g/l, και γαλακτική δεϋδρογενάση > από τα φυσιολογικά όρια στον ορό.[105] Τα ανωτέρω αποτελούν τα κριτήρια Runyon's με ευαισθησία 66% και ειδικότητα 90% για τη διάκριση της δευτεροπαθούς περιτονίτιδας.[106]

Για τον προσδιορισμό του αριθμού και του τύπου των λευκοκυττάρων, χρυσός κανόνας είναι η μικροσκόπηση, ενώ χρησιμοποιείται και η κυτταρομετρία ροής.[7] Η χρήση ταινιών, ανάλογων αυτών που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση λοιμώξεων του ουροποιητικού, δε συστήνεται καθώς τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα ανέρχονται ως και στο 50% των περιπτώσεων.[34]

2.2 Μικροβιολογία της αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες με τη χρήση μοριακών τεχνικών, το ασκτικό υγρό στην πλειοψηφία των περιπτώσεων αποικίζεται από πολλαπλά παθογόνα.[25,26] Παρόλα αυτά, με τη χρήση των κλασικών καλλιεργητικών τεχνικών, στην ΑΒΠ απομονώνεται, στο 90% των περιπτώσεων, ένα μόνο παθογόνο (μονομικροβιακή). Καθώς βασικός παθογενετικός μηχανισμός είναι η βακτηριακή μετατόπιση, τα υπεύθυνα παθογόνα προέρχονται κυρίως από την εντερική χλωρίδα.[44] Τις προηγούμενες δεκαετίες, τα gram αρνητικά ήταν υπεύθυνα για άνω του 70% των ΑΒΠ. Από αυτά, συχνότερα απαντώμενα ήταν η *Escherichia Coli* (46%-47%) και η *Klebsiella* (9-13%).[107,108] Σε πιο πρόσφατες μελέτες, η *Escherichia Coli* παραμένει το

συχνότερο παθογόνο, αν και με μικρότερη επίπτωση, όντας υπεύθυνη για το 22-25% των περιπτώσεων ΑΒΠ.[109,110]

Οι gram θετικοί κόκκοι αποτελούσαν λιγότερο από το 25% των περιπτώσεων ΑΒΠ. Από το 1990, παρατηρείται προοδευτική αύξηση της επίπτωσης των gram θετικών. Ενδεικτικά, σε γαλλική μελέτη το 2009 [58] τα gram θετικά ήταν υπεύθυνα για το 66% των νοσοκομειακών ΑΒΠ σε αντίθεση με τους εξωτερικούς ασθενείς στους οποίους υπερτερούσαν, αν και με μειωμένο ποσοστό (53%), τα gram αρνητικά. Στην εν λόγω μελέτη, τα συχνότερα gram θετικά ήταν οι κοαγκουλάση-αρνητικοί *staphylococci* οι *enterococci*, οι *streptococci* και ο *S. aureus*. Λίγα έτη μετά [111], σε μελέτη του ίδιου κέντρου, τα gram θετικά ήταν υπεύθυνα για το 67% και 62% των νοσοκομειακών και μη σχετιζόμενων με νοσοκομειακό περιβάλλον ΑΒΠ αντιστοίχως. Τα συχνότερα τακτοποιούμενα ήταν οι κοαγκουλάση-αρνητικοί *staphylococci* (27%) και ο *Enterococcus spp.* (24%). Τα αποτελέσματα αυτά επαναλήφθηκαν σε μεταγενέστερη μελέτη [112] στην οποία gram θετικά απομονώθηκαν στο 47.8% των περιπτώσεων ΑΒΠ έναντι 44.9% των gram αρνητικών. Παρόμοια είναι τα δεδομένα και για την Ελλάδα. Ήδη από την περίοδο 1998-2002 παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας των Gram θετικών κόκκων στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα στο Ιπποκράτειο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών. Την περίοδο 2008-2011, από το ίδιο κέντρο, διαπιστώθηκε ότι οι Gram-θετικοί κόκκοι αποτελούσαν το 55% των περιπτώσεων αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας με θετικές καλλιέργειες.[113] Οι ίδιοι συγγραφείς, την περίοδο 2012-2014 καταγράφουν παρόμοιο ποσοστό Gram θετικών κόκκων σε δείγμα 130 ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα ή αυτόματη βακτηραιμία.[114]

Άλλη, σημαντική μεταβολή και για την ΑΒΠ συνιστά η αύξηση του ποσοστού των πολυανθεκτικών μικροβίων. Ενδεικτικά, σε προοπτική μελέτη το 2001, ο MRSA ήταν υπεύθυνος για το 10% της ΑΒΠ.[115] Σε άλλη μελέτη την ίδια χρονική περίοδο, gram θετικά ταυτοποιούνταν στο 57% των περιπτώσεων ΑΒΠ σε ασθενείς υπό προφύλαξη με σιπροφλοξασίνη για πάνω από ένα μήνα, και ο MRSA ήταν το υπεύθυνο παθογόνο στο

77% των περιπτώσεων.[116] Σε άλλη μελέτη, τα ESBL *Escherichia coli* και *Klebsiella* ήταν τα συχνότερα απομονούμενα MDR, σε ποσοστό 73%. Στην εν λόγω μελέτη, η αντοχή στις κινολόνες τρίτης γενιάς ανερχόταν στο 28% και στις κινολόνες στο 32%.[117] Σε πρόσφατη Γερμανική μελέτη το 2016 σε 311 περιστατικά ABΠ, το ποσοστό MDR υπολογίστηκε σε μόλις 4% και αφορούσαν στο σύνολο τους παρουσία VRE%.[118] Όμως τα ποσοστά αντοχής στην κεφτριαξόνη ανερχόταν στο 30% για τις λοιμώξεις της κοινότητας και στο 44% για τις νοσοκομειακές ABΠ ενώ για την σιπροφλοξασίνη τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 56% και 59%. Σημειώνεται επίσης το ποσοστό 34% αντοχής στη μεροπενέμη για τις νοσοκομειακές λοιμώξεις. Τα ίδια δεδομένα ισχύουν και για την Ελλάδα. Την περίοδο 2008-2011 οι λοιμώξεις από DR ανερχόταν σε 19% των περιπτώσεων. Οι μισές από τις περιπτώσεις συνολικά, παρουσίαζαν ανθεκτικότητα στις τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες και παρόμοια ποσοστά στις κινολόνες.[113] Στο ίδιο κέντρο, την περίοδο 2012-2014 παρόλο που τα ποσοστά των λοιμώξεων από DR κυμαίνονταν στα ίδια επίπεδα με την προηγούμενη περίοδο, οι περιπτώσεις και η ποικιλία των XDR αυξήθηκαν. Η μεροπενέμη ήταν ακατάλληλη στο 31% των περιπτώσεων ενώ η ανθεκτικότητα στις τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες ανερχόταν στο 44%. Όλα τα XDR βακτηρίδια ήταν ευαίσθητα στην κολιστίνη και στην τυγκεκυκλίνη.[114] Ανάλογα, ερευνητικές ομάδες από διάφορες χώρες, υπολογίζουν τα ποσοστά αποτυχίας στην ABΠ για τις τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες μεταξύ 18-41%.[119]

Τέλος, ιδιαίτερη κατηγορία είναι η αυτόματη μυκητιασική περιτονίτιδα. Οι μύκητες αποτελούν συνήθη σαπρόφυτα στον άνθρωπο, αποικίζοντας το δέρμα και τους βλεννογόνους. Τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται συχνά στην κίρρωση μεταβάλλουν την εντερική χλωρίδα ευοδώνοντας την ανάπτυξη μυκήτων. Η υποθρεψία και η ανοσοκαταστολή της κίρρωσης συμβάλλουν περαιτέρω.[120] Η επίπτωση μυκητιασικής περιτονίτιδας εκτιμάται στο 3.5-4% των περιπτώσεων λοίμωξης του ασκτικού υγρού. Παράγοντες κινδύνου είναι η βαρύτητα της ηπατικής νόσου και η κίρρωση αιθυλικής αλκοόλης.[121] Ο συχνότερα ταυτοποιούμενος

μύκητας είναι η *Candida albicans* ακολουθούμενη από την *Candida neoformans* και τον *Aspergillus spp.* Τονίζεται ότι η παρουσία μύκητα συνοδεύεται από παρουσία βακτηρίου στο 73.3%-100% των περιπτώσεων.

2.3 Πρόγνωση αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας

Για την ΑΒΠ, η ενδονοσοκομειακή θνητότητα ανερχόταν στο 90%. Πλέον, με την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση έχει μειωθεί στο 10-46%.[7] Δυσμενής είναι και η μακροπρόθεσμη επιβίωση που εκτιμάται στο 30-50% στο 1 έτος και στο 25-30% στα 2 [7] με τη μέση επιβίωση να υπολογίζεται σε 9 μήνες.[108]

Αναφορικά με τους παράγοντες κινδύνου ενδονοσοκομειακής θνητότητας, πέραν όσων αναφέρθηκαν για τις λοιμώξεις γενικά, στις μελέτες της ΑΒΠ αναφέρονται συγκεκριμένα δείκτες βαρύτητας της ηπατικής νόσου όπως η υψηλή τιμή INR [122], το υψηλό MELD score στην εισαγωγή, η παρουσία ηπατοκυτταρικού καρκίνου [123], η ύπαρξη ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και η νεφρική δυσλειτουργία.[124] Καθυστέρηση στη διάγνωση άνω των 12 ωρών, οδηγεί σε 2.7 φορές πιο αυξημένη θνητότητα [125] ενώ οι λοιμώξεις από MDR συσχετίζονται με 4 φορές υψηλότερο κίνδυνο θανάτου.[7]

Στην προσπάθεια βελτίωσης της ακρίβειας στην πρόβλεψη της έκβασης, έχουν προταθεί και μοντέλα συνδυασμού δεικτών. Συγκεκριμένα, ο συνδυασμός του MELD με την ηλικία προβλέπει αξιόπιστα την ενδονοσοκομειακή θνητότητα (AUROC 0.88).[126] Για την πρόβλεψη της θνητότητας στις 30 ημέρες, άλλη συγγραφική ομάδα προτείνει τον κανόνα 22/11. Η σύσταση τους βασίζεται στην παρατήρηση ότι ασθενείς με MELD < 22 και λευκά αιμοσφαίρια < $11 \times 10^9/l$ έχουν θνητότητα $\leq 10\%$. Ασθενείς με ένα από τα 2 κριτήρια 32% ενώ όσοι έχουν και τα 2, 52%.[127]

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη της θετικότητας των καλλιιεργειών ως δείκτη πρόγνωσης καθώς τα δεδομένα είναι ιδιαίτερα αντιφατικά στη βιβλιογραφία. Χαρακτηριστικά,

ορισμένοι συγγραφείς συσχέτισαν τις θετικές καλλιέργειες με υψηλότερη θνητότητα κατά τη νοσηλεία.[128-131] Στην πλειοψηφία των μελετών η θνητότητα, μετά την αντιμετώπιση της οξείας λοίμωξης, είναι παρόμοια μεταξύ των ασθενών με θετικές και αρνητικές καλλιέργειες του ασκίτικού υγρού. Στις 3 εκ των 4 μελετών που καταγράφουν διαφορά στη θνητότητα [128-130], η θετικότητα των καλλιεργειών συσχετίζεται με τη βαρύτητα της ηπατικής νόσου αλλά μόλις σε 1 εκ των 4 παρατηρείται διαφορά στη φλεγμονώδη αντίδραση.[130] Στον αντίποδα, κατά άλλους συγγραφείς, τόσο τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά όσο και η θνητότητα δε διαφέρουν μεταξύ ασθενών με λοίμωξη ασκίτικού υγρού και θετική έναντι αρνητικής καλλιέργειας.[132,133] Σε άλλες περιπτώσεις, παρά την πιο σοβαρή διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας και τους υψηλότερους δείκτες φλεγμονής, οι ασθενείς με θετική καλλιέργεια δε παρουσιάζουν δυσμενέστερη έκβαση είτε κατά τη νοσηλεία είτε μετά την λύση του οξέος επεισοδίου.[134] Ο μικρός αριθμός ασθενών, ο αναδρομικός σχεδιασμός αρκετών εκ των μελετών καθώς και η σημαντική ετερογένεια στις τεχνικές καλλιέργειας αλλά και τα κριτήρια αποκλεισμού των ασθενών δεν επιτρέπουν την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων (**Πίνακας 1**). Για αυτό και σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες, η λοίμωξη του ασκίτικού υγρού σε ασθενή με κίρρωση αντιμετωπίζεται με τον ίδιο τρόπο και θεωρείται ότι φέρει την ίδια δυσμενή πρόγνωση, ανεξαρτήτως του αποτελέσματος της καλλιέργειας.[7]

Ξεχωριστά αναφέρεται η μυκητιασική περιτονίτιδα, της οποίας η ενδοноσοκομειακή θνητότητα είναι υψηλότερη της μικροβιακής, κυμαινόμενη στο 62-78.8%.[135,136] Μάλιστα, σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στην αντιμικροβιακή αγωγή, όταν αυτή δεν περιλαμβάνει αντιμυκητιασικό, ανέρχεται στο 100%. Η θνητότητα στον 1 και 6 μήνες είναι επίσης σημαντικά υψηλότερη έναντι της ΑΒΠ, υπολογιζόμενη σε 58% και 89.5% αντιστοίχως.[50]

2.4 Θεραπεία

Η θεραπευτική αγωγή στοχεύει στον έλεγχο της λοίμωξης και την μείωση της πιθανότητας νεφρικής βλάβης, που συχνά συνοδεύει την ΑΒΠ. Η ανταπόκριση στην αγωγή

αξιολογείται βάσει της μείωσης του ποσοστού των ουδετερόφιλων στο ασκитικό υγρό κατά τουλάχιστον 25%, 48 ώρες από την έναρξη αντιβιοτικής αγωγής. Σε κάθε περίπτωση, οφείλει να αποκλείεται το ενδεχόμενο δευτερογενούς περιτονίτιδας.[7]

Αναφορικά με την επιλογή αντιμικροβιακής αγωγής, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρίας Μελέτης Ήπατος το 2010, ως πρώτη γραμμή θεραπείας για την ΑΒΠ συστήνεται η χορήγηση 3^{ης} γενιάς κεφαλοσπορίνης. Εναλλακτικά προτείνεται η χορήγηση αμοξικιλίνης-κλαβουλανικού οξέος ή κινολόνης όπως η σιπροφλοξασίνη και η οφλοξασίνη.[63] Όπως αναδεικνύεται από τα ποσοστά DR μικροβίων, η εν λόγω αγωγή είναι αναποτελεσματική στο 11-45% των νοσοκομειακών και σχετιζόμενων με περιβάλλον υγείας ΑΒΠ.[65]

Πλέον, σύμφωνα με τα ισχύοντα επιδημιολογικά δεδομένα, για τις λοιμώξεις της κοινότητας, προτείνεται η χρήση τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνης σε περιοχές με μικρή επίπτωση πολυανθεκτικών βακτηρίων και η χρήση πιπερακιλλίνης-ταζοβακτάμης επί υψηλής επίπτωσης DR. Για τη σχετιζόμενη με περιβάλλον υγείας και τη νοσοκομειακή ΑΒΠ, ως πρώτη γραμμή προτείνεται η πιπερακιλλίνη-ταζοβακτάμη σε περιοχές με χαμηλή επίπτωση MDR. Στις άλλες περιπτώσεις προτείνεται η χρήση μεροπενέμης σε συνδυασμό με γλυκοπεπτιδία, δαπτομυκίνη ή λινεζολίδη επί υψηλής επίπτωσης MDR gram θετικών κόκκων.[7]

Πέραν της αντιβιοτικής αγωγής, παράγοντας που σχετίζεται με βελτίωση της έκβασης στην ΑΒΠ είναι η λευκωματίνη. Η βασική της δράση είναι η έκπτυξη του ενδαγγειακού όγκου. Δευτερευόντως, μειώνει την περιφερική αγγειοδιαστολή, ίσως μέσω δέσμωσης ουσιών με συστηματική αγγειοδιασταλτική δράση.[137] Ήδη από το 1999, σε μελέτη των Sort et al [138] σε δείγμα 126 ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, συγκρίθηκε η έκβαση των ασθενών που έλαβαν μονοθεραπεία με κεφοταξίμη σε σχέση με εκείνους που έλαβαν κεφοταξίμη σε συνδυασμό με λευκωματίνη. Η δεύτερη ομάδα, παρουσίασε σε στατιστικά σημαντικά μικρότερο ποσοστό ηπατονεφρικό σύνδρομο τύπου I (30% έναντι 10%, $p=0.002$), μικρότερο ποσοστό

ενδοοσοκομειακής θνητότητας (29% έναντι 10%, $p=0.01$) και καλύτερη επιβίωση στους 3 μήνες παρακολούθησης ($p=0.03$). Το όφελος είναι σαφές για ασθενείς με ολική χολερυθρίνη > 4 mg/dl ή κρεατινίνη > 1 mg/dl. Για ασθενείς που δεν πληρούν αυτά τα κριτήρια, το όφελος δεν είναι τεκμηριωμένο καθώς η πιθανότητα ηπατονεφρικού συνδρόμου ή θανάτου είναι σημαντικά χαμηλότερη.[139] Παρόλα αυτά, λόγω έλλειψης δεδομένων από μεγάλες μελέτες, σύμφωνα με τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες, όλοι οι ασθενείς με ABΠ συστήνεται να λαμβάνουν αγωγή με λευκωματίνη 1.5 g/kg κατά τη διάγνωση και 1 g/kg την ημέρα 3.[7]

2.5 Προφύλαξη στην ABΠ

2.5.α Δευτερογενής προφύλαξη

Ασθενείς που επέζησαν από το πρώτο επεισόδιο ABΠ, σε ποσοστό 70% θα εμφανίσουν νέο επεισόδιο εντός του πρώτου χρόνου.[108]

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα διπλής-τυφλής μελέτης [140], η συνεχής αγωγή με από του στόματος νορφλοξασίνη μειώνει την πιθανότητα ανάπτυξης νέου επεισοδίου ABΠ από 68% στην ομάδα placebo σε 20% στην ομάδα της νορφλοξασίνης. Τα αποτελέσματα είναι πιο εντυπωσιακά για την ABΠ από gram αρνητικά βακτήρια, όπου παρατηρήθηκε μείωση από το 60% της ομάδας placebo, στο 3%. Τα θετικά αυτά αποτελέσματα δεν φαίνονται να επηρεάζονται από την αύξηση των ανθεκτικών στην κινολόνη στελεχών. Χαρακτηριστικά, σε πρόσφατη μελέτη, ομάδα ασθενών που κατά το επεισόδιο ABΠ έφερε στελέχη με ανθεκτικότητα στην κινολόνη 71%, έλαβε δευτερογενή προφύλαξη με νορφλοξασίνη. Το ποσοστό εμφάνισης νέου επεισοδίου ABΠ ανήλθε στο 28.5%, ποσοστό παρόμοιο με το 20-26% που καταγράφεται σε μελέτες προ 20 ετών.[141]

Η μακροχρόνια αγωγή με από του στόματος νορφλοξασίνη, 400 mg ημερησίως, συστήνεται να ξεκινά άμεσα μετά την ολοκλήρωση της αγωγής για το οξύ σύμβαμα και να διαρκεί μέχρι την εξάλειψη της ασκικτικής συλλογής, τη διενέργεια μεταμόσχευσης ή το

θάνατο.[108] Η χρήση άλλων κινολονών όπως σιπροφλοξασίνης και λεβοφλοξασίνης, αν και έχουν το πρόσθετο όφελος της κάλυψης του φάσματος και των gram θετικών βακτηρίων, δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς.[108] Επίσης, η εβδομαδιαία, διακοπτόμενη χρήση, είναι λιγότερο αποτελεσματική και πιθανώς σχετίζεται με ταχύτερη ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών.[35]

Στη δευτερογενή προφύλαξη έχει μελετηθεί επίσης η ριφαξιμίνη σε σύγκριση με νορφλοξασίνη. Σε διάστημα παρακολούθησης 6 μηνών, η ομάδα της ριφαξιμίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντικά λιγότερα επεισόδια ΑΒΠ (3.88% έναντι 14.13%, $p=0.04$) καθώς και σημαντικά χαμηλότερη θνητότητα.[142] Σε πρόσφατη μάλιστα μετα-ανάλυση, η ριφαξιμίνη υπερερεύσε των σιπροφλοξασίνη, νορφλοξασίνη και τριμεθοπρίμη-σουλφομεθοξαζόλη τόσο στη μείωση κινδύνου υποτροπής της ΑΒΠ όσο και στη μείωση του κινδύνου θανάτου/μεταμόσχευσης ήπατος.[143]

Δεδομένα υπάρχουν και για τη χρήση τριμεθοπρίμης-σουλφομεθοξαζόλης σε αυτή την κατηγορία ασθενών. Σύμφωνα με έως τώρα δεδομένα, οι 2 κατηγορίες φαρμάκων εμφανίζουν παρόμοια αποτελεσματικότητα και προφίλ ασφάλειας.[144-146] Οι συνέπειες αυτής της παρατήρησης είναι σημαντικές για τη μείωση του κόστους της αγωγής προφύλαξης και για την αποφυγή περαιτέρω εξάπλωσης ανθεκτικών στις κινολόνες στελεχών. Παρόλα αυτά, για την χορήγηση άλλης αγωγής πλην νορφλοξασίνης στη δευτερογενή προφύλαξη δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα.

2.5.β Πρωτογενής προφύλαξη

Ο κίνδυνος ανάπτυξης ΑΒΠ αυξάνεται όταν η ολική πρωτεΐνη του ασκτικού υγρού είναι χαμηλότερη από 1-1.5 g/dL. Αυτή η κατηγορία ασθενών, παρουσιάζει ετήσιο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΒΠ της τάξεως του 20%.[147] Κατά τους Terg et al [148], η προφυλακτική αγωγή με σιπροφλοξασίνη σε ασθενείς με επίπεδα πρωτεΐνης ασκτικού υγρού χαμηλότερα από 1.5 g/dl, μειώνει κατά 4 φορές την πιθανότητα ΑΒΠ, αν και η διαφορά σε σχέση με την ομάδα ελέγχου δεν είναι στατιστικά σημαντική. Όμως, στατιστικά σημαντική είναι η παρατηρούμενη αύξηση

στην επιβίωση έτους ($p < 0.04$). Πέραν της χαμηλής πρωτεΐνης ασκτικού υγρού, το score Child – Pugh C, ο αριθμός πολυμορφοπύρηνων ασκτικού > 100 κύτταρα/ μL και η υπονατρία με Na ορού < 125 mmol/L, αποτελούν προγνωστικούς δείκτες ανάπτυξης ABΠ.[149] Ως επιπλέον παράγοντες κινδύνου λοίμωξης, έχουν αναγνωρισθεί τα επίπεδα χολερυθρίνης > 3.2 mg/dl, και ο αριθμός αιμοπεταλίων < 98.000 . [150] Σε ασθενείς που πληρούν αυτά τα κριτήρια, η αγωγή με νορφλοξασίνη αποφέρει οφέλη. Κατά τους Fernandez et al [151], η χορήγηση νορφλοξασίνης σε υποομάδα ασθενών με χαμηλή ολική πρωτεΐνη ασκτικού υγρού και επηρεασμένη νεφρική λειτουργία (κρεατινίνη ≥ 1.2 mg/dl ή νάτριο ≤ 130 mEq/L) ή προχωρημένο στάδιο ηπατικής νόσου (Child – Pugh ≥ 9 ή χολερυθρίνη ≥ 3 mg/dL) συσχετίστηκε με μείωση του κινδύνου ABΠ στο 1 έτος (7% έναντι 61% στην ομάδα ελέγχου) μείωση της επίπτωσης του ηπατονεφρικού συνδρόμου (28% έναντι 41% στην ομάδα ελέγχου) και βελτίωση της επιβίωσης στους 3 μήνες (94% έναντι 62%). Λόγω των εντυπωσιακών αποτελεσμάτων της εν λόγω μελέτης, οι κατευθυντήριες οδηγίες έχουν υιοθετήσει τα κριτήρια ένταξης στη μελέτη ως κριτήρια για την έναρξη πρωτογενούς προφύλαξης με νορφλοξασίνη.[7]

Πέραν της νορφλοξασίνης, δεδομένα υπάρχουν και για τη χρήση ριφαξιμίνης στην πρωτογενή πρόληψη της ABΠ. Σε μελέτη σε μικρό αριθμό ασθενών, η ριφαξιμίνη φαίνεται να μειώνει στατιστικά σημαντικά την εμφάνιση ABΠ σε σχέση με τους ασθενείς που δε λάμβαναν προφυλακτική αντιβιοτική αγωγή σε περίοδο παρακολούθησης 4 μηνών.[152] Σε μεταγενέστερη ανάλυση σε 334 ασθενείς [153], συγκρίθηκε η προφυλακτική αγωγή νορφλοξασίνης με αυτή της ριφαξιμίνης και με την εναλλαγή χορήγησης των 2 ανά διαστήματα μηνός για διάστημα παρακολούθησης 6 μηνών. Ως συμπέρασμα, η συνδυαστική θεραπεία είναι περισσότερο αποτελεσματική από τη μονοθεραπεία με νορφλοξασίνη στην πρόληψη ABΠ ($p < 0.05$), ενώ δεν υπάρχει διαφορά στη σύγκριση της με τη μονοθεραπεία με ριφαξιμίνη. Η ριφαξιμίνη και η νορφλοξασίνη ως μονοθεραπείες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την αποτελεσματικότητα. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι οι 3 ομάδες δεν παρουσίασαν σημαντικές

διαφορές αναφορικά με τις ανεπιθύμητες ενέργειες ή τις αιτίες θανάτου. Αντιθέτως, πρόσφατη μετα-ανάλυση αναδεικνύει υπεροχή της ριφαξιμίνης τόσο για την πρωτογενή όσο και για τη δευτερογενή προφύλαξη.[143]

Περισσότερες μελέτες προς την ανίχνευση παραγόντων κινδύνου θα επιτρέψουν την αναγνώριση των ασθενών με το μεγαλύτερο όφελος από την προφυλακτική αντιβιοτική αγωγή και τον καθορισμό του βέλτιστου σχήματος.

2.5.γ Λοιπά μέτρα πρόληψης

Ο κίνδυνος λοιμώξεων και ιδίως ABΠ φαίνεται πως σχετίζεται και με τη λήψη αναστολέων της αντλίας πρωτονίων (proton pump inhibitors, PPIs). Ο προτεινόμενος παθοφυσιολογικός μηχανισμός είναι η μείωση του γαστρικού Ph που οδηγεί σε βακτηριακή υπερανάπτυξη. Σε μελέτη παρατήρησης σε 350 κίρρωτικούς ασθενείς, διάρκειας 5 ετών, αξιολογήθηκε η επίδραση των PPIs στην εμφάνιση επιπλοκών της κίρρωσης. Η ομάδα των PPIs παρουσίαζε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ABΠ [55% έναντι 24.8%, hazard ratio (HR) 4.25, $p=0.05$]. Η εν λόγω ομάδα παρουσίαζε επίσης αυξημένο κίνδυνο για ρήξη της αντιρρόπησης (HR 2.81, $p=0.008$) και αυξημένη θνητότητα από αιτίες σχετικές με την ηπατική νόσο ($p<0.001$). Μάλιστα, η χρήση PPIs (HR 2.81, $p=0.003$) και το MELD score (HR 1.21, $p<0.001$) αποτελούσαν ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου θνητότητας.[154] Άλλη πρόσφατη αναδρομική μελέτη επιβεβαιώνει τα εν λόγω αποτελέσματα. Μάλιστα, όσο πιο παρατεταμένη είναι η χρήση, τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος.[155] Παλιότερη αναδρομική μελέτη σε 1554 κίρρωτικούς ασθενείς, αναδεικνύει αυξημένο κίνδυνο ABΠ στην ομάδα των PPIs (10.6% έναντι 5.8%, $p=0.002$).[156] Σύμφωνα με τα ανωτέρω δεδομένα, οι κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν χρήση PPIs μόνο σε ασθενείς με απόλυτη ένδειξη.[7]

Η χρήση μη εκλεκτικών β αναστολέων (non-selective b-blockers, NSBBs) όπως η προπρανολόλη και η καρβεδιλόλη, χρησιμοποιούνται στην κίρρωση ως πρωτογενής και δευτερογενής προφύλαξη στην κίρρωση, μειώνοντας την πυλαία υπέρταση.[61] Σε

πρόσφατες μελέτες, η χρήση τους συνοδεύεται επιπλέον από μείωση της βακτηριακής μετατόπισης όπως εκφράζεται από μειωμένα επίπεδα LBP και IL-6 στο πλάσμα.[61] Αναφορικά με το ρόλο των NSBBs στην ΑΒΠ, μετα-ανάλυση καταδεικνύει μείωση της πιθανότητας ΑΒΠ κατά 12% στους χρήστες προπανολόλη σε σύγκριση με τους μη λαμβάνοντες. Μάλιστα, το αποτέλεσμα είναι ανεξάρτητο από την επίτευξη αιμοδυναμικής ανταπόκρισης.[157] Σε αναδρομική μελέτη σε ασθενής με ανθεκτικό ασκίτη, χωρίς λοίμωξη, η λήψη NSBBs συσχετίστηκε με μείωση των νοσηλειών και αύξηση της επιβίωσης. Μειωμένη επιβίωση είχαν μόνο οι ασθενείς με προηγμένη επεισόδιο ΑΒΠ, οι οποίοι στην πλειοψηφία τους ήταν Child-Pugh C.[158] Η παρατήρηση αυτή αντανακλά πιθανώς τον κίνδυνο διαταραχής της αιμοδυναμικής ισορροπίας με τη χρήση NSBBs στην ηπατική νόσο τελικού σταδίου. Φυσικά απαιτούνται περισσότερα δεδομένα για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

3. Βιοδείκτες λοίμωξης και βακτηριακής μετατόπισης στην κίρρωση

3.1 Δείκτες λοίμωξης στην κίρρωση

Η τεκμηρίωση της λοίμωξης στον ειδικό πληθυσμό των κίρρωτικών ασθενών αποτελεί πρόκληση, καθώς τα συνήθη κλινικά σημεία και εργαστηριακά ευρήματα δεν είναι αξιόπιστα: Η ταχυσφυγμία είναι συνήθης λόγω της υπερδυναμικής κυκλοφορίας της πυλαίας υπέρτασης [159] ο πυρετός συνοδεύει την εκσεσημασμένη συστηματική φλεγμονή όπως χαρακτηριστικά

στην αλκοολική ηπατίτιδα [160], ενώ ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι συχνά μειωμένος λόγω του υπερσπληνισμού.[159]

Οι μέθοδοι ανίχνευσης και ταυτοποίησης παθογόνων χωρίζονται αδρά σε 2 μεγάλες κατηγορίες. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες στην καθημερινή κλινική πράξη είναι οι έμμεσες τεχνικές. Οι 2 βασικοί τους άξονες είναι η ανάπτυξη του παθογόνου σε καλλιεργητικό υλικό και η ταυτοποίηση του βάσει των φαινοτυπικών του χαρακτηριστικών. Η αρχαιότερη των μεθόδων είναι η μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών των παθογόνων με την άμεση μικροσκόπηση. Οι νεότερες τεχνικές βασίζονται στη ανάλυση χαρακτηριστικών του μεταβολισμού των παθογόνων μέσω της μελέτης παραγώγων του μεταβολισμού υδατανθράκων, λιπιδίων και αμινοξέων και της παραγωγής ενζύμων (γλυκουρονιδάση, γαλακτοσιδάση, γλυκοσιδάση, φουκοσιδάση).[161] Στις τελευταίες υπάγονται οι χρωματογραφικές μέθοδοι, οι βιοχημικές μέθοδοι, και η φασματομετρία μάζας.[162] Τα τελευταία έτη χρησιμοποιούνται ευρύτατα συνδυασμοί της φασματομετρίας με χρωματογραφικές μεθόδους. Στη σύγχρονη κλινική πράξη, παρά την πληθώρα των διαθέσιμων εργαστηριακών εξετάσεων, ο «χρυσός κανόνας» για την αδιαμφισβήτητη διάγνωση λοίμωξης παραμένουν οι θετικές αιμοκαλλιέργειες. Βασικό περιορισμό αποτελεί η χαμηλή ευαισθησία τους, καθώς σύμφωνα με πολλαπλές μελέτες, ακόμα και στους σηπτικούς ασθενείς θετικοποιούνται μόλις στο 11-40%.[163,164] Ακόμα μικρότερη είναι η ευαισθησία στην ανίχνευση μυκηταιμίας.[165] Παρόμοια είναι τα ποσοστά και στους ασθενείς με κίρρωση ήπατος.[166] Επιπλέον, ο χρόνος απάντησης είναι 24-48 ώρες και τα αποτελέσματα της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά συχνά καθυστερούν περισσότερο.[163] Επιπλέον μειονέκτημα αποτελεί η υψηλή συχνότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, δηλαδή επιμολύνσεων, με τη συχνότητα της να αυξάνεται κατά τη λήψη τους σε συνθήκες αυξημένου φόρτου εργασίας, όπως συμβαίνει στο τμήμα επειγόντων.[167]

Οι βιοδείκτες της σήψης, είναι συνήθως διαθέσιμοι προ των μικροβιολογικών αποτελεσμάτων, στερούνται όμως ευαισθησίας και ειδικότητας. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι είναι η C – αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP) και ο αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων. Όμως, αμφότεροι παρουσιάζουν αύξηση σε πληθώρα άλλων καταστάσεων όπως οι αυτοάνοσες παθήσεις, τα κακοήθη νεοπλασμάτα, το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Τελικά, η ευαισθησία της CRP για την ανίχνευση βακτηριαιμίας εκτιμάται στο 95% αλλά η ειδικότητα της μόλις στο 15%. [168] Σε μελέτες σε κίρρωτικούς ασθενείς, καταδεικνύεται και η μεγάλη διακύμανση στις βέλτιστες τιμές πρόβλεψης λοίμωξης. Ενδεικτικά, κατά τους Papp et al [169] τιμές > 10mg/l διακρίνουν αξιόπιστα τη λοίμωξη. Η αξιοπιστία μειώνεται σε πιο προχωρημένα στάδια ηπατικής νόσου όπου η CRP παρουσιάζει υψηλότερες τιμές. Κατά τους Lazarotto et al [170] η βέλτιστη τιμή για τη διάγνωση λοίμωξης είναι τα 29.5 mg/l ενώ κατά τους Ximenes et al [171] τα 59.4mg/l. Πέραν της μεγάλης διακύμανσης στη βέλτιστη τιμή μεταξύ των μελετών, έτερος περιορισμός φαίνεται να είναι η εξάρτηση της τιμής από το χρόνο λήψης. Σε μελέτη σε 454 ασθενείς με πυρετό [172], καταδεικνύεται η σημασία του χρόνου λήψης του δείγματος από την έναρξη των συμπτωμάτων, καθώς σε διάστημα μικρότερο των 12 ωρών, τα επίπεδα της δε παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών με βακτηριακή και μη βακτηριακή λοίμωξη.

Ανάλογοι είναι οι περιορισμοί και για την προκαλσιτονίνη. Πρόκειται για πρόδρομο μόριο της ορμόνης καλσιτονίνης που παράγεται σαν απάντηση στην ενδοτοξιναιμία. Η ευαισθησία και ειδικότητα της για τη διάγνωση λοίμωξης εκτιμώνται στο 75% και 79% αντίστοιχα [173], καθώς και αυτή αυξάνεται σε καταστάσεις όπως η βαριά συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, η οξεία παγκρεατίτιδα και οι λοιμώξεις από ιούς και παράσιτα. Και για αυτό τον βιοδείκτη, δεν υπάρχει καθολικό όριο αναφοράς. Ενδεικτικά, οι βέλτιστες τιμές για τη διάγνωση λοίμωξης που έχουν προταθεί παρουσιάζουν σημαντική διακύμανση, οριζόμενες ως 0.15 μg/L [169], 0.58 ng/ml [174] και 1.1 μg/L. [170] Εναλλακτική επιλογή υπό μελέτη αποτελεί η IL-6. Πρόσφατη μελέτη σε

δείγμα 233 κίρρωτικών ασθενών με ισχυρή υποψία λοίμωξης και εκδήλωση SIRS κατά τη νοσηλεία, καταδεικνύει ότι η IL-6 παρουσιάζει αύξηση στους ασθενείς με σήψη ταχύτερα από την προκαλσιτονίνη, έχοντας μάλιστα ευαισθησία 94.8% και ειδικότητα 93.7% για τη διάγνωση της σήψης.[175]

Άλλος δείκτης που μελετάται είναι η έκφραση του CD64 στα ουδετερόφιλα, που μπορεί να μετρηθεί με κυτταρομετρία ροής. Πρόκειται για υποδοχέα που αναγνωρίζει την περιοχή Fc της ανοσοσφαιρίνης G. Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα συνηγορούν στο ότι πρόκειται για αξιόπιστο δείκτη διάγνωσης βακτηριακής λοίμωξης, με ευαισθησία 79% και ειδικότητα 91%.[176] Άλλος δείκτης είναι η προσηψίνη, διαλυτός υπότυπος του CD 14, με αρνητική προγνωστική αξία 94.4%.[177]

Οι ανωτέρω βιοδείκτες, πέραν της χαμηλής ειδικότητάς τους, δεν προσφέρουν πληροφορίες για τον υπεύθυνο μικροοργανισμό ώστε να γίνει στοχευμένη έναρξη αντιβιοτικής αγωγής. Η ανάγκη για ταχύτερες και πιο ευαίσθητες μεθόδους στρέφει το ενδιαφέρον στις μοριακές μεθόδους με πρώτιστη την PCR.[178]

3.2 Δείκτες βακτηριακής μετατόπισης

Η μόνη μέθοδος που αποδεικνύει χωρίς αμφισβήτηση την παρουσία βακτηριακής μετατόπισης είναι η βιοψία και η μετέπειτα θετική καλλιέργεια μεσεντέριου λεμφαδένα. Καθώς αυτή είναι εξέταση που δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί μαζικά, ερευνητικά ακολουθούνται δύο κατευθύνσεις.

Η πρώτη προσέγγιση αφορά την αναζήτηση και μέτρηση βακτηριακών προϊόντων στα βιολογικά υγρά. Τέτοιος δείκτης είναι η λιποπολυσακχαρίδη (Lipopolysaccharide, LPS) ή ενδοτοξίνη, συστατικό της κυτταρικής μεμβράνης των gram αρνητικών βακτηρίων.[179] Σε πρώιμες μελέτες σε κίρρωτικούς ασθενείς τα επίπεδα LPS σχετίστηκαν με τη βαρύτητα τη

ηπατικής βλάβης και μάλιστα προέβλεψαν αξιόπιστα τη βραχυπρόθεσμη θνητότητα.[180,181] Σε έτερες όμως μελέτες, τα επίπεδα δεν παρουσίαζαν συσχέτιση με το στάδιο της νόσου ή την εμφάνιση επιπλοκών. Ενδεικτικό των περιορισμών της μεθόδου είναι το γεγονός ότι σε ποικίλες μελέτες, LPS ανιχνεύεται στο 0-93% των ασθενών [72] ενώ σε επαναληπτικούς ελέγχους, χωρίς την μεσολάβηση οποιασδήποτε παρέμβασης, το 50% των ασθενών με αρχικά ανιχνεύσιμα επίπεδα, ήταν αρνητικοί για παρουσία LPS.[182-184] Τα παραπάνω αντιφατικά αποτελέσματα αντανakλούν τους περιορισμούς στη χρήση του εν λόγω βιοδείκτη, οι σημαντικότεροι εκ των οποίων είναι ο μικρός χρόνος ημίσειας ζωής καθώς και η επήρεια που ασκούν στις μετρήσεις παράγοντες όπως τα επίπεδα αντισωμάτων-προσδετών της LPS αλλά και της HDL, του ισχυρότερου προσδέτη της στο αίμα.[185] Στην ίδια κατηγορία, η πεπτιδογλυκάνη αποτελεί το 70% και 20% των τοιχωμάτων των gram θετικών και gram αρνητικών βακτηρίων αντιστοίχως, η φλαγγελίνη αποτελεί κοινό δομικό συστατικό όλων των κινητών βακτηρίων ενώ το Lipoteichoic acid (LTA) αποτελεί συστατικό του τοιχώματος των gram θετικών βακτηρίων αποκλειστικά.[186] Έως τώρα, κανείς από τους ανωτέρω δείκτες δεν έχει μελετηθεί ως δείκτης ΒΤ στην κίρρωση. Το βακτηριακό DNA αποτελεί το εκτενέστερα μελετημένο βακτηριακό συστατικό στην κίρρωση τόσο για τη διάγνωση λοίμωξης όσο και ως δείκτης βακτηριακής μετατόπισης. Έως τώρα τα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα αντιφατικά και θα αναλυθούν εκτενώς στη συνέχεια.

Η δεύτερη προσέγγιση αφορά τη μελέτη δεικτών της ανοσιακής απάντησης σε υποομάδες κίρρωτικών ασθενών. Τόσο η CRP όσο και η PCT έχουν μελετηθεί σαν δείκτες βακτηριακής μετατόπισης, έχοντας σε όλες τις περιπτώσεις ως κριτήριο για τη βακτηριακή μετατόπιση τη διάγνωση ΑΒΠ. Συνεπώς σε όλες τις περιπτώσεις η βακτηριακή μετατόπιση αφορούσε ζώντες οργανισμούς και όχι βακτηριακά προϊόντα. Καθολικό εύρημα σε αυτές τις μελέτες αποτελεί η υπεροχή της PCT έναντι της CRP για τη διάκριση ΑΒΠ. Όμως, στα υπόλοιπα αποτελέσματα παρατηρείται σημαντική ετερογένεια. Συγκεκριμένα, κατά τους Lesińska et al, τα επίπεδα PCT δε διέφεραν μεταξύ ασθενών με και χωρίς ΑΒΠ.[187] Στις

περιπτώσεις που αναδείχθηκε διαφορά, η βέλτιστη τιμή για τη διάκριση ΑΒΠ διέφερε σημαντικά. Ενδεικτικά, κατά τους Cai et al [188], τιμή PCT > 2 ng/ml είχε 94% ειδικότητα για τη διάγνωση ΑΒΠ. Σε άλλη όμως μελέτη, ως βέλτιστη τιμή για τη διάκριση ΑΒΠ αναδείχθηκαν τα 0.75ng/ml [189]. Προσπάθειες μέτρησης των 2 δεικτών και στο ασκικό υγρό, δεν οδήγησαν σε σαφέστερα συμπεράσματα.[179]

Καλύτερα είναι τα αποτελέσματα για την καλπροτεκτίνη, πρωτεΐνη δεσμευτική του ασβεστίου και ψευδαργύρου που αποτελεί το 60% των κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών των ουδετερόφιλων. Τα επίπεδα της στα κόπρανα συσχετίζονται με τη διήθηση του εντερικού βλεννογόνου από ουδετερόφιλα και το βαθμό φλεγμονώδους αντίδρασης.[179] Καθώς η διαταραχή του εντερικού βλεννογόνου είναι ένα από τα αίτια ΒΤ, μελετήθηκε ως έμμεσος δείκτης του φαινομένου. Τα επίπεδα της στον ορό δεν ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με κίρρωση αντιροπούμενη ή μη σε σχέση με υγιείς μάρτυρες.[190,191] Παρόλα αυτά, κίρρωτικοί ασθενείς με υψηλά επίπεδα καλπροτεκτίνης ορού παρουσίαζαν υψηλότερη συχνότητα βακτηριακών λοιμώξεων και δυσμενέστερη επιβίωση.[192] Ο συγκριμένος βιοδείκτης φαίνεται πως αντανάκλα καλύτερα τη ΒΤ μετρούμενος στα κόπρανα. Σε μελέτη των Gundling et al [193], σε 61 ασθενείς με κίρρωση, τα επίπεδα καλπροτεκτίνης κοπράνων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με κίρρωση σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες και αυξανόταν περαιτέρω με την πρόοδο της ηπατικής νόσου. Επιπλέον, συσχετιζόταν με την ύπαρξη ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και ΑΒΠ. Σε πρόσφατες μελέτες, η μέτρηση της στον ασκίτη έχει 89% ειδικότητα για την ανίχνευση πολυμορφοπυρηνικού ασκίτη σε ποικίλες αιτιολογίες ασκικής συλλογής.[194] Συγκεκριμένα στην ΑΒΠ, σε μονοκεντρικές μελέτες η ειδικότητα για τη διάγνωση της κυμαίνεται στο 85-98%.[195,196]

Τέλος, μελετώνται οι δείκτες οι σχετιζόμενοι με την LPS. Η LPS προκαλεί την έκφραση της πρωτεΐνης προσδένουσας την LPS (Lipopolysaccharide Binding Protein, LBP), με την οποία προσδένεται στην κυκλοφορία. Η LBP είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης με παραγωγή κυρίως από

τα ηπατοκύτταρα. Το σχηματιζόμενο σύμπλοκο αναγνωρίζεται από τον μεμβρανικό υποδοχέα CD14 (membrane CD14, m CD14) στα ηπατικά και εξηπατικά μακροφάγα ή το διαλυτό του κλάσμα (soluble CD14, sCD14). Ακολουθεί ενδοκύττωση μέσω του υποδοχέα TLR4 και ενεργοποίηση του μονοπατιού του πυρηνικού παράγοντα κB (nuclear factor-κB) με αποτέλεσμα την παραγωγή TNF- α, IL-6, and IL-8.[197] Για αυτό το λόγο τόσο η LBP όσο και ο CD14 έχουν μελετηθεί ως έμμεσοι δείκτες BT. Βασικό πλεονέκτημα της LBP σε σχέση με την LPS είναι ο υψηλότερος χρόνος ημίσειας ζωής. Κατά τους Albillos et al [198], κίρρωτικοί ασθενείς με υψηλές τιμές LBP και CD14 έχουν υψηλότερα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών και δυσμενέστερο αιμοδυναμικό προφίλ, με χαμηλότερες περιφερικές αντιστάσεις και υψηλότερη τιμή ρενίνης πλάσματος. Μάλιστα, η αγωγή με νορφλοξασίνη οδήγησε σε ομαλοποίηση των επιπέδων των LBP και CD14. Αξίζει να σημειωθεί ότι η LPS ήταν ανιχνεύσιμη μόλις στο 1/3 ασθενών με υψηλά επίπεδα LBP. Κατά τους ίδιους συγγραφείς [199] υψηλά επίπεδα LBP αυξάνουν κατά 4.5 φορές τον κίνδυνο λοίμωξης κατά το διάστημα παρακολούθησης. Επίσης κατά τους Agiasotelli et al [200], η LBP είναι ιδιαίτερα αξιόπιστος δείκτης για τον αποκλεισμό λοίμωξης. Επιπλέον, σε ασθενείς χωρίς λοίμωξη, τα υψηλά επίπεδα αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα βραχυπρόθεσμης θνητότητας. Περιορισμοί της LBP είναι η έκφραση της μόνο από gram αρνητικά παθογόνα καθώς και η ανίχνευση της και σε καταστάσεις λοίμωξης και όχι μόνο BT. Κατά τους Tuomisto et al [201], τα επίπεδα bDNA στο ήπαρ παρουσιάζουν σημαντική συσχέτιση με την έκφραση CD14. Μάλιστα, τα επίπεδα sCD14 σχετίζονται και με τη βαρύτητα τη ηπατικής ίνωσης σε ασθενείς με Χρόνια ηπατίτιδα Β και C [202], το βαθμό φλεγμονώδους αντίδρασης στη μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος [203] ενώ επίσης προβλέπουν αξιόπιστα την πρόοδο ίνωσης σε ασθενείς με συλλοίμωξη HIV-ΧHC.[204]

Άλλος δείκτης είναι τα αντισώματα έναντι κυτταροπλάσματος των ουδετερόφιλων (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA), υποτάξης IgA. Κατά τους Papp et al [205] ασθενείς

με κίρρωση παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα IgA ANCA σε σχέση με ασθενείς με χρόνια ηπατική νόσο χωρίς κίρρωση και υγιείς μάρτυρες. Τα υψηλά επίπεδα συσχετίζονται με βαρύτερη ηπατική νόσο και παρουσία ασκίτη. Επίσης ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα παρουσιάζουν συχνότερα λοιμώξεις σε συντομότερο μάλιστα χρονικό διάστημα από ότι οι ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα. Τέλος, άλλη ομάδα υπό μελέτη αποτελούν τα φυσικά αντιμικροβιακά πεπτίδια. Από αυτά, η β-ντεφενσίνη ορού-1 ορού είναι αντιμικροβιακό πεπτίδιο με σταθερή παραγωγή από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντερικού βλενογόννου και τα κύτταρα Paneth, η οποία αυξάνεται περαιτέρω σε καταστάσεις φλεγμονής. Κατά τους Kaltsa et al [206], τα επίπεδα β-ντεφενσίνης-1 είναι αυξημένα σε ασθενείς με κίρρωση σε σχέση με υγιείς μάρτυρες και συσχετίζονται με την έκφραση του sCD14. Σε μεταγενέστερη μελέτη [207], ασθενείς με οξεία-επί-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές β-ντεφενσίνης-1 ορού. Τα υψηλά επίπεδα, αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη θνητότητας (**Πίνακας 2**).

4. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης στην ανίχνευση βακτηριακού DNA: Μεθοδολογία και κλινικές εφαρμογές

4.1. Βασικές αρχές της μεθόδου και παραλλαγές της

Βασικός περιορισμός όλων των έμμεσων τεχνικών ταυτοποίησης παθογόνων είναι η χαμηλή ευαισθησία και ο χρόνος που απαιτείται για την προετοιμασία και επεξεργασία των δειγμάτων. Για το λόγο αυτό, αναπτύσσονται οι άμεσες, μοριακές, ανεξάρτητες από καλλιέργεια τεχνικές. Η ευρύτερα μελετημένη και διαδεδομένη μοριακή μέθοδος η PCR. Η μέθοδος περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενους κύκλους ενίσχυσης επιλεγμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων. Η επιλογή της αλληλουχίας-στόχου γίνεται με τη χρήση ζεύγους συνθετικών ολιγονουκλεϊδικών εκκινητών που προσδένονται στις 2 αλυσίδες της αλληλουχίας στόχου. Κάθε κύκλος PCR αποτελείται από 3 στάδια : α) Αποδιάταξη της διπλής έλικας DNA-στόχου, β) Υβριδοποίηση των εκκινητών με τις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες και γ) Επιμήκυνση της

αντίδρασης, κατά την οποία η θερμοάντοχη DNA-πολυμεράση επιμηκύνει τις αλληλουχίες των υβριδισμένων εκκινητών με κατεύθυνση 5'-3'. Στο τέλος κάθε κύκλου, η ποσότητα DNA διπλασιάζεται. Η αποδιάταξη και η υβριδοποίηση επιτυγχάνονται μέσω μεταβολών στη θερμοκρασία.

Η αρχική αποδιάταξη συντελείται μέσω κατάργησης των δεσμών αδενίνης-θυμίνης και κυτοσίνης-γουανοσίνης στους 95°C για 3-5 λεπτά. Ακολουθούν 30-35 κύκλοι αποδιάταξης-υβριδοποίησης-επιμήκυνσης. Ο αριθμός των κύκλων εξαρτάται από την ποσότητα του αρχικού DNA και την τελική επιθυμητή ποσότητα. Η αποδιάταξη στον κάθε κύκλο γίνεται επίσης στους 95°C αλλά για 30-55 δευτερόλεπτα. Η υβριδοποίηση των εκκινητών στο 3' άκρο της αλληλουχίας-στόχου συντελείται στους 50-65°C για 30-55 δευτερόλεπτα. Στη συνέχεια η θερμοανθεκτική πολυμεράση επιμηκύνει τις αλληλουχίες στους 72°C για επιπλέον 30-55 δευτερόλεπτα. Μετά τον τελευταίο κύκλο, ακολουθεί επώαση στους 72°C για 5-15 λεπτά με στόχο τη σταθεροποίηση των προϊόντων της αντίδρασης.[208]

Ως γενική αρχή, η χρήση PCR για την ανίχνευση βακτηριακού DNA βασίζεται στη σχεδίαση εκκινητών έναντι διατηρημένων εξελικτικά γενετικών αλληλουχιών που περιέχουν φυλογενετικές πληροφορίες. Η ειδικότητα της μεθόδου εξασφαλίζεται από 2 χαρακτηριστικά των εν λόγω αλληλουχιών: 1) Δεν εκφράζονται στο ανθρώπινο είδος και 2) Είναι μοναδικές για το κάθε είδος βακτηρίου. Τα εν λόγω χαρακτηριστικά διαθέτουν οι αλληλουχίες του γονιδίου του 16S ριβοσωμικού ριβονουκλεϊκού οξέος (ribosomal ribonucleic acid – r RNA) και του γονιδίου του 23S rRNA. Βάσει των ανωτέρω, οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται είναι είτε "καθολικοί", στοχεύοντας κοινές περιοχές των 16S rRNA και 23S rRNA για όλα τα είδη βακτηρίων είτε ειδικοί, έναντι χαρακτηριστικών του κάθε βακτηρίου αλληλουχιών εντός των περιοχών 16S rRNA και 23S rRNA.[209]

Το υπό μελέτη γενετικό υλικό, το μέγεθος και ο αριθμός των εκκινητών, τα ένζυμα που απαιτούνται για την αντίδραση και ο τρόπος επεξεργασίας και ανάλυσης των προϊόντων της αντίδρασης δίνουν γένεση στις ποικίλες παραλλαγές της μεθόδου.

PCR πραγματικού χρόνου ή ποσοτική

Η PCR πραγματικού χρόνου (real time PCR) ή ποσοτική PCR (quantitative PCR, qPCR) χρησιμοποιεί φθορίζουσες χρωστικές για τον προσδιορισμό του πολλαπλασιαζόμενου DNA σε κάθε κύκλο PCR. Η μέθοδος βασίζεται στο ότι οι παρεμβαλλόμενες σε δίκλωνο μόριο DNA χρωστικές παρουσιάζουν ελάχιστο ή καθόλου φθορισμό όταν βρίσκονται ελεύθερες σε διάλυμα, ενώ παράγουν ποσοτική αύξηση του φθορισμού όταν προσδένονται σε δίκλωνο DNA. Κατά τη διάρκεια της ενίσχυσης, ο παραγόμενος φθορισμός φτάνει μετά από κάποιο κύκλο σε ανιχνεύσιμα επίπεδα. Ο κύκλος αυτός ονομάζεται Threshold cycle (Ct) ή Crossing point. Με τη χρήση διαδοχικών αραιώσεων γνωστής ποσότητας DNA από δείγμα ελέγχου ή γνωστής συγκέντρωσης διαλυμάτων DNA, δημιουργείται καμπύλη αναφοράς για την μέτρηση της συγκέντρωσης DNA. Η ποσότητα DNA στο υπό μελέτη δείγμα προκύπτει από την συσχέτιση της τιμής Ct με τις τιμές της καμπύλης αναφοράς και διορθώνεται για τυχόν αραιώσεις του αρχικού δείγματος. Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η ευαισθησία, η ταχύτητα των αντιδράσεων και η ακρίβεια στους υπολογισμούς.[208,210]

Ευρέος φάσματος PCR

Η ευρέος φάσματος PCR (broad-spectrum PCR) χρησιμοποιεί καθολικούς εκκινητές για την ενίσχυση των περιοχών 16S rRNA ή 23S rRNA. Η μέθοδος παρέχει ποιοτικές πληροφορίες για την ύπαρξη ή μη βακτηριακού γενετικού υλικού. Η περαιτέρω ταυτοποίηση των παθογόνων απαιτεί ανάλυση του ενισχυμένου προϊόντος είτε με αλληλούχηση είτε με άλλες μετα-ενισχυτικές τεχνικές.[211]

Πολυπλεκτική PCR

Η πολυπλεκτική PCR (multiplex PCR) χρησιμοποιεί δύο ή περισσότερα ζεύγη εκκινητών έναντι διαφορετικών στόχων που εισάγονται ταυτόχρονα στον ίδιο σωλήνα αντίδρασης. Τα παραγόμενα προϊόντα πρέπει να έχουν επαρκή διαφορά στο μήκος ώστε να διαχωρίζονται σαφώς σε ηλεκτροφόρηση με γέλη ή άλλες διαφορές με βάση τις οποίες μπορεί να διαφοροποιηθούν (πχ. διαφορές στο φθορισμό ή στο σημείο αποδιάταξης- melting point). Η εν λόγω τεχνική έχει βρει εφαρμογή και στην ανίχνευση μεταλλάξεων για την ταυτοποίηση στελεχών ανθεκτικών στα αντιβιοτικά. Στην κλινική μικροβιολογία, έχουν αναπτυχθεί πληθώρα αυτοματοποιημένων δοκιμασιών για την ανίχνευση και ταυτοποίηση άλλοτε άλλου αριθμού μικροβίων ή/και μυκήτων. Κάποιες εξ αυτών παρέχουν και τη δυνατότητα ανίχνευσης γονιδίων ανθεκτικότητας.[208]

Επάλληλη PCR

Η επάλληλη PCR (nested PCR) σχεδιάστηκε με στόχο την αύξηση της ευαισθησίας και ειδικότητας της μεθόδου. Με τη χρήση ενός ζεύγους εκκινητών, είναι πιθανή η ενίσχυση ανεπιθύμητων αλληλουχιών με μοριακή ομοιότητα με την αλληλουχία στόχο. Στη nested PCR χρησιμοποιούνται 2 ζεύγη εκκινητών. Το πρώτο ζεύγος ενισχύει ευρεία περιοχή της αλληλουχίας-στόχου. Το δεύτερο ζεύγος είναι σχεδιασμένο να υβριδοποιείται σε αλληλουχία μικρότερου μεγέθους εντός της αλληλουχίας-στόχου, αυξάνοντας την ειδικότητα της μεθόδου. Παράλληλα με την αύξηση του αριθμού των κύκλων της PCR υπάρχει και αύξηση στην ευαισθησία της μεθόδου. [212]

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με αντίστροφη μεταγραφάση

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης μετά από αντίστροφη μεταγραφάση (reverse transcriptase PCR, rtPCR) χρησιμοποιείται για την ανάλυση αλληλουχιών RNA. Κατά αυτή τη μέθοδο, το RNA από το δείγμα μετατρέπεται σε συμπληρωματικό DNA (complimentary DNA, cDNA) με τη χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης. Στη συνέχεια, ενισχύεται το cDNA με τη χρήση

DNA πολυμεράσης, όπως προηγουμένως. Η μέθοδος μπορεί να γίνει σε ένα στάδιο, με την παράλληλη χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης και DNA πολυμεράσης ή σε διαδοχικά στάδια.[213] Στην κλινική πράξη, η μέθοδος χρησιμοποιείται στη μελέτη RNAίων.

4.2 Ανάλυση των προϊόντων ενίσχυσης

Επί επιλογής μεθόδου ποσοτικής ή ευρέος φάσματος PCR, η περαιτέρω ταυτοποίηση του βακτηριακού DNA απαιτεί την εφαρμογή πρόσθετων τεχνικών.

Η πιο διαδεδομένη είναι η αλληλούχηση (sequencing), η ανάλυση δηλαδή της αλυσίδας νουκλεοτιδίων στο προϊόν της αντίδρασης τους και η σύγκριση με ηλεκτρονικές παγκόσμιες βάσεις δεδομένων. Στα πρωταρχικά στάδια, η μέθοδος βασιζόταν στην ανακατασκευή συμπληρωματικών μικρών τμημάτων του υπό μελέτη DNA με χρήση σημασμένων νουκλεοτιδίων. Στο τέλος της σύνθεσης, τα θραύσματα διαχωρίζονταν με τεχνικές ηλεκτροφόρησης με διαφορά μήκους μιας βάσης. Στο τέλος του διαχωρισμού, τα τμήματα DNA σαρώνονταν με laser και η διάκριση των βάσεων γινόταν μέσω χρωματικού κώδικα. Στην αλληλούχηση δεύτερης γενιάς, υπάρχουν 2 προσεγγίσεις. Η πρώτη βασίζεται στην ικανότητα του μηχανήματος να αναγνωρίζει την αλλαγή του pH από τα ιόντα που απελευθερώνονται κατά τη προσθήκη των βάσεων κατά τη σύνθεση του DNA σε κάθε θέση αντίδρασης. Με την εν λόγω τεχνική, το βακτηριακό γονιδίωμα αναγνωρίζεται εντός 2 ωρών. Η δεύτερη μέθοδος χρησιμοποιεί φωτοευαίσθητο αισθητήρα που διαβάζει το νουκλεοτίδιο κατά την προσθήκη του. Όλες οι παραπάνω τεχνικές προϋποθέτουν ενίσχυση DNA. Με τα μηχανήματα τρίτης γενιάς επιτρέπεται η αλληλούχηση μονού μορίου χωρίς ενίσχυση. Κατά την πρώτη μέθοδο, γίνεται πραγματικού χρόνου παρατήρηση του DNA με τη χρήση τεσσάρων σημασμένων νουκλεοτιδίων. Ο φθορισμός απελευθερώνεται ταυτόχρονα με την νουκλεοτιδική ενσωμάτωση.

Κατά τη δεύτερη τεχνική, το μηχάνημα αναγνωρίζει διαφορές στις φυσικοχημικές ιδιότητες των τεσσάρων νουκλεοτιδίων κατά τη δίοδο τους από νανοπόρους.[214,215]

Άλλη τεχνική είναι ο πολυμορφισμός διαμόρφωσης μονόκλωνης αλυσίδας. Η στερεοδιαμόρφωση στο μονόκλωνο DNA βασίζεται στις φυσικοχημικές ιδιότητες της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων. Η διαφορετική δομή επηρεάζει την ταχύτητα μετανάστευσης στο πήκτωμα ηλεκτροφόρησης. Η τεχνική είναι αρκετά ευαίσθητη ώστε να ανιχνεύει έως και μονήρεις αντικαταστάσεις νουκλεοτιδίων.[216] Παραλλαγή της μεθόδου είναι ο πολυμορφισμός μεγέθους περιοριστικών θραυσμάτων. Κατά αυτή, το γενετικό υλικό υφίσταται θραύση από ενδονουκλεάσες και ακολουθεί ηλεκτροφόρηση. Το πρότυπο κατανομής των θραυσμάτων στο πήκτωμα παραβάλλεται με γνωστά πρότυπα σε βάσεις δεδομένων.[217] Όταν το μεγάλο μήκος των θραυσμάτων δε επιτρέπει ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα, αυτό το στάδιο αντικαθίσταται από ηλεκτροφόρηση σε παλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο. Η τελευταία χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.[218] Εναλλακτική τεχνική είναι η πολυεστιακή ταυτοποίηση με μικροδορυφορικές αλληλουχίες. Οι μικροδορυφορικές αλληλουχίες είναι περιοχές με επαναλαμβανόμενα νουκλεοτιδικά πρότυπα 1-6 βάσεων που μεταλλάσσονται ταχύτερα από το υπόλοιπο γονιδίωμα, μεταβάλλοντας κυρίως την επαναληψιμότητά τους. Οι διάφοροι πολυμορφισμοί ενισχύονται με εκκινητές πριν και μετά από την περιοχή ενδιαφέροντος και ακολουθεί είτε ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα είτε αλληλούχηση και σύγκριση με βάσεις δεδομένων.[215]

4.3 Το βακτηριακό DNA σε διάφορες καταστάσεις εκτός παθήσεων του ήπατος

Ήδη από τις αρχές της προηγούμενης δεκαετίας με τη χρήση PCR απομονώθηκε βακτηριακό γενετικό υλικό από τον ορό υγιών ανθρώπων.[219,220] Έκτοτε, αδρανής ή μη ευχερώς καλλιεργούμενα μικρόβια ανιχνεύονται στο αίμα ή και ενδοκυττάρια σε διάφορες ομάδες ασθενών με μη μεταδοτικές νόσους.[221] Χαρακτηριστικά, βακτηριακό DNA ανιχνεύεται στον ορό ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 [222], καρδιαγγειακές παθήσεις [223] αλλά

και τη νόσο Parkinson.[224] Σε αυτές τις περιπτώσεις, η έρευνα στοχεύει έως τώρα στη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ BT και της φυσικής πορείας της νόσου, με στόχο την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Έως τώρα, κλινική εφαρμογή έχει βρει μόνο η ανίχνευση *bactDNA* στη σήψη, καθώς θεωρητικά επιτρέπει την ανίχνευση του υπεύθυνου παθογόνου ταχύτερα και με μεγαλύτερη ευαισθησία από τις συμβατικές καλλιέργειες.

Η χρήση multiplex PCR είναι η πλέον υποσχόμενη καθώς επιτρέπει την ταυτοποίηση εντός ωρών του υπεύθυνου παθογόνου και αναλόγως της μεθόδου, την ταυτόχρονη ανίχνευση γονιδίων ανθεκτικότητας. Στην πράξη, η εφαρμογή της μεθόδου ενέχει δυσκολίες. Πολλαπλές μελέτες έχουν διενεργηθεί με σκοπό την αξιοπιστία της PCR. Ως γενική αρχή στις μελέτες, μέθοδος αναφοράς είναι οι καλλιέργειες αίματος. Με βάση τις θετικές καλλιέργειες, υπολογίζεται η ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου. Επί αρνητικής καλλιέργειας αλλά θετικής PCR, τα αποτελέσματα αναφέρονται ξεχωριστά. Η SeptiFast (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Γερμανία) είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος. Επιτρέπει την ανίχνευση 25 παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων 6 είδη μυκήτων, 9 gram θετικών κόκκων και 10 gram αρνητικών βακτηρίων. Άλλες ταχείες μέθοδοι είναι η REBA-Sepsis, η SeptiTest και η IRIDICA. Η PCR-REBA (Optipharm, Osong, Κορέα) αναγνωρίζει παρόμοια παθογόνα με τη SeptiFast με τη διαφορά ότι αναγνωρίζει επιπλέον τα γονίδια ανθεκτικότητας *mecA* για την αντοχή στη μεθυκιλλίνη και *vanA* και *vanB* για την αντοχή στη βανκομυκίνη. Η SeptiTest (Molzym, Bremen, Γερμανία) είναι PCR πραγματικού χρόνου που χρησιμοποιεί καθολικούς εκκινητές έναντι του βακτηριακού 16S rRNA και του μυκητιασικού 18S rRNA. Μετά από 4 ώρες, δίνει τα πρώτα αποτελέσματα για την παρουσία περισσότερων από 345 μικροοργανισμών. Ακολουθεί αλληλούχηση και μετά από επιπλέον 3-4 ώρες, η ταυτοποίηση του παθογόνου ολοκληρώνεται.[225] Τέλος, η IRIDICA, συνδυάζοντας την PCR με φασματομετρία, ταυτοποιεί το υπεύθυνο παθογόνο εντός 6 ωρών. Βασικοί περιορισμοί είναι η πιθανή ανίχνευση και μη

ζώντων παθογόνων, η πιθανώς μειωμένη ευαισθησία επί πολυμικροβιακών λοιμώξεων και η πιθανότητα επιμόλυνσης. Σύμφωνα με μελέτες, η επιμόλυνση στην PCR κυμαίνεται μεταξύ 0-15%.[225] Επίσης σημαντικός περιορισμός είναι η παρουσία στο αίμα ανασταλτών της PCR όπως η ηπαρίνη, οι ανοσοσφαιρίνες και ο σίδηρος.

Σε μελέτη 72 ασθενών με σήψη οι συμβατικές καλλιέργειες ήταν θετικές στο 28% έναντι 51.4% με τη χρήση multiplex PCR. Όμως η συμφωνία των μεθόδων ήταν μόλις 46%.[226] Σε μετα-ανάλυση 34 μελετών με συνολικό αριθμό ασθενών 6012 [227], η ευαισθησία της μεθόδου έχοντας ως μέθοδο αναφοράς είτε τις καλλιέργειες αίματος είτε κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια σήψης, υπολογίστηκε στο 76% ενώ η ειδικότητα παρέμενε σε όλες τις υποομάδες ανάλυσης μεταξύ 92-95%. Στις μελέτες που συμπεριλήφθησαν στην ανάλυση, η ευαισθησία κυμαινόταν μεταξύ 20-100% και η ειδικότητα μεταξύ 71-99%. Η ειδικότητα ήταν 20% μόνο σε μία μελέτη, σε μικρό αριθμό ασθενών με υποψία ενδοκαρδίτιδας αντί υποψίας σήψης που ήταν το κριτήριο ένταξης στις λοιπές μελέτες. Σε όλες τις μελέτες χρησιμοποιήθηκε το ίδιο εμπορικό αντιδραστήριο. Σε μελέτη επί θετικών αιμοκαλλιιεργειών, η ευαισθησία της μεθόδου ανήλθε στο 95%, με ένα υπολογιζόμενο κέρδος 18 ωρών στην ταυτοποίηση των παθογόνων σε σχέση με τη συμβατική καλλιέργεια.[228] Σε μεταγενέστερη μετα-ανάλυση 37 μελετών με τη χρήση του ίδιου αντιδραστηρίου, έχοντας ως μέθοδο αναφοράς τις καλλιέργειες αίματος, η ευαισθησία ήταν 68% και η ειδικότητα 86%. Επισημαίνεται ότι μόλις το 17% των καλλιιεργειών ήταν θετικές.[229] Η συμφωνία των 2 μεθόδων στο σύνολο των μελετών κυμαίνεται μεταξύ 40-89.5%.[225]

Η υπεροχή της PCR είναι σαφής επί προηγηθείσας χρήσης αντιβιοτικών, καθώς το αποτέλεσμα της δεν επηρεάζεται. Η παρατήρηση αυτή επαναλαμβάνεται σε αρκετές μελέτες. Ενδεικτικά αναφέρεται μελέτη σε ασθενείς με εμπύρετο ουδετεροπενία. Επί προηγηθείσας λήψης αντιβιοτικών οι καλλιέργειες ήταν θετικές στο 3% των περιπτώσεων έναντι 15% θετικής PCR.[225,230] Καλύτερα αποτελέσματα ενδέχεται να αποφέρει η εφαρμογή αλληλούχησης επόμενης γενιάς (next generation sequencing, NGS). Σε πρόσφατη μελέτη, η NGS ήταν θετική

στο 72% των ασθενών με σηπτικό shock έναντι 33% των συμβατικών καλλιέργειών. Μάλιστα, η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της PCR θα οδηγούσε σε αλλαγή της αντιβιοτικής αγωγής στο 53% των περιπτώσεων. Σημειώνεται όμως ότι σε 10 δείγματα η καλλιέργεια ήταν θετική ενώ η NGS αρνητική. Ο χρόνος επεξεργασίας του δείγματος ήταν 24 ώρες.[231] Σε άλλη μελέτη σε μικρότερο δείγμα ασθενών με σήψη, η NGS ήταν θετική σε 10/10 των υπό μελέτη ασθενών έναντι 3/10 των συμβατικών καλλιέργειών. Το πρωτόκολλο της NGS που εφαρμόστηκε ήταν διαφορετικό. Η υψηλότερη ευαισθησία συνοδεύτηκε από αύξηση του χρόνου επεξεργασίας του δείγματος σε 7 ημέρες.[232] Σε παλαιότερη όμως μελέτη, η χρήση NGS είχε ευαισθησία 30% έναντι 12% των κλασικών καλλιέργειών με χρόνο επεξεργασίας τις 31 ώρες.[233] Οι διαφορές που προκύπτουν ερμηνεύονται από τα διαφορετικά πρωτόκολλα επεξεργασίας των δειγμάτων καθώς και το μικρό αριθμό ασθενών σε όλες τις μέχρι τώρα μελέτες που δεν επαρκεί για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Υπό εξέλιξη βρίσκεται πολυκεντρική μελέτη παρατήρησης της εφαρμογής NGS σε ασθενείς με πιθανή σήψη. Με την ολοκλήρωση της αναμένεται να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.[234]

4.4 Το βακτηριακό DNA ως δείκτης στην κίρρωση

Η σημασία της ανίχνευσης bactDNA στο αίμα ή τον ασκίτη μελετάται εκτενώς τα τελευταία έτη. Σύμφωνα με μελέτες, απαντάται στο 1/3 έως και 80% των ασθενών με μη αντιρροπούμενη κίρρωση χωρίς ενδείξεις λοίμωξης.[235-238] Εντυπωσιακά, ανιχνεύσιμο bactDNA στα ίδια ποσοστά ανευρίσκεται και σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση ήπατος.[239] Η ανίχνευση του συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών συμπεριλαμβανομένων των TNF- α , IFN-gamma (INF), Interleukin 12 (IL-12) και μεσολαβητικών μορίων όπως το μονοξείδιο του αζώτου.[20,240] Τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών είναι μάλιστα ανάλογα εκείνων στους ασθενείς με λοιμώξεις, ιδίως ABΠ.[241] Η παρουσία bactDNA συνοδεύεται και από διαταραχές της συστηματικής κυκλοφορίας, συγκεκριμένα με χαμηλότερη αρτηριακή πίεση αλλά όχι μεταβολή στην πυλαία

υπέρταση.[242] Σε ορισμένες μελέτες, το bactDNA συσχετίστηκε και με αυξημένη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη θνητότητα καθώς και αυξημένο κίνδυνο επιπλοκών όπως η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα και το ηπατονεφρικό σύνδρομο.[20,21]

Αξίζει να σημειωθεί ότι ακόμη και στις μελέτες στις οποίες το bactDNA συσχετίστηκε με επιπλοκές της ηπατικής νόσου ή δυσμενή έκβαση, η παρουσία του δεν συσχετίστηκε με τους δείκτες βαρύτητας της ηπατικής βλάβης ή της πυλαίας υπέρτασης όπως εκφράζεται από την παρουσία οισοφαγικών κισμών και/ή πυλαίας γαστροπάθειας.[20,21,236,238]. Επίσης, δε παρατηρήθηκε συσχέτιση με τους συνήθως μετρούμενους δείκτες στην κλινική πράξη για την εκτίμηση της φλεγμονώδους αντίδρασης.[20,21] Όμως, ιδιαίτερα σημαντική είναι η παρατήρηση ότι το θετικό bactDNA κατά την πρώτη αξιολόγηση του ασθενούς, συνοδεύτηκε από σημαντική επίταση της ανοσιακής αντίδρασης και επιδείνωση των δεικτών ηπατικής λειτουργίας, σε επανεκτίμηση 24 εβδομάδες μετά, σε σύγκριση με τους ασθενείς με αρχικά αρνητικό bactDNA **(Πίνακας 3)**.[21]

4.5 Το βακτηριακό DNA στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα

Σε ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση και σημεία λοίμωξης, το ποσοστό ανίχνευσης bactDNA αυξάνεται από το 30% σε άνω του 70% των περιπτώσεων. Παρόμοια ποσοστά παρατηρούνται και επί SIRS ή OEXHA. Χαρακτηριστικά, σε αυτές τις ομάδες κίρρωτικών, η παρουσία bactDNA, ως μεμονωμένος παράγοντας, δε συσχετίζεται με αυξημένη βραχυπρόθεσμη θνητότητα.[22,23,25,27] Εξαίρεση αποτελεί η περίπτωση απομόνωσης γονιδίων ανθεκτικότητας, στην οποία η πρόγνωση είναι πτωχή.[23]

Πέραν από προγνωστικός δείκτης, το bactDNA μελετήθηκε και ως μέσο για την ταχεία ταυτοποίηση των υπεύθυνων παθογόνων στην ΑΒΠ, με τα αποτελέσματα να είναι θετικά σε αρκετές μελέτες. Συγκεκριμένα, σε μελέτη των Soriano et al, bDNA ανιχνεύθηκε στο 92% των ασθενών με θετική καλλιέργεια ασκίτη, και σε επιπλέον 50% αυτών με αρνητική καλλιέργεια. Η

συμφωνία της μοριακής μεθόδου με την κλασική καλλιέργεια κυμάνθηκε στο 75% (8/12 ασθενείς). Στην πλειοψηφία όμως των περιπτώσεων, η μοριακή μέθοδος δεν οδήγησε σε ταυτοποίηση του παθογόνου. Σε μελέτη των Rogers GB et al σε 29 ασθενείς με πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη [28], bactDNA απομονώθηκε σε 28 από τα 29 δείγματα, σε αντίθεση με το 1/3 των ασθενών με τις κλασικές καλλιεργητικές μεθόδους. Παρόμοια, σε μελέτη των Viera et al [29], bactDNA ανιχνεύθηκε σε 10/12 περιπτώσεις πολυμορφοπυρηνικού ασκίτη ή βακτηριασκήτη έναντι 8/12 με τις συμβατικές καλλιέργειες, με τις 2 μεθόδους να συμφωνούν ως προς το παθογόνο στο 87% των περιπτώσεων. Ενθαρρυντικά αποτελέσματα προέρχονται και από την πιο πρόσφατη μελέτη των Bruns et al [22] στην οποία με τη χρήση multiplex PCR, παθογόνο απομονώθηκε σε 6/11 περιπτώσεις πολυμορφοπυρηνικού ασκίτη έναντι 5/11 με την κλασική καλλιέργεια.

Στον αντίποδα, άλλοι συγγραφείς αναφέρει πτωχή ευαισθησία όπως και ειδικότητα των μοριακών μεθόδων. Χαρακτηριστικά, κατά τους Hardick J et al [30] η ευαισθησία της PCR ήταν παρόμοια με της κλασικής καλλιέργειας, κυμαινόμενη στο 19% έναντι 16%. Η συμφωνία των 2 μεθόδων ως προς την ταυτοποίηση των 2 υπολογίσθηκε στο 70%. Κατά τους Sugihara T et al [31], η μοριακή μέθοδος ήταν θετική στο 75% των θετικών καλλιεργείων, με τη συμφωνία των μεθόδων να υπολογίζεται σε μόλις 57%. Σε πρόσφατη μελέτη [24], η ευαισθησία της PCR ήταν επίσης χαμηλή, περιοριζόμενη στο 25% (**Πίνακας 4**).

Πέραν των διαφορετικών μεθόδων PCR αλλά και καλλιέργειας που εφαρμόστηκαν στις διάφορες μελέτες και μπορούν να εξηγήσουν εν μέρει τα αντιφατικά αποτελέσματα, πρέπει να ληφθούν επιπλέον υπόψη 2 βασικοί περιορισμοί της μεθόδου. Ο πρώτος αφορά τη δυσκολία στην εξαγωγή του bactDNA καθώς σύμφωνα με παλαιότερα δεδομένα, το μικροβιακό φορτίο είναι ιδιαίτερα χαμηλό στον πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη, υπολογιζόμενο, κατά μέσο όρο, σε 1 μικροοργανισμό ανά χιλιοστόλιτρο.[243] Μια άλλη πιθανότητα είναι η ύπαρξη ανασταλτών της PCR, φαινόμενο που έχει παρατηρηθεί στην επεξεργασία δειγμάτων αίματος αλλά και

κοπράνων και ούρων. Αλλαγές στη μεθοδολογία όπως μεταβολή της θερμοκρασίας φύλαξης ή της τεχνικής εξαγωγής του DNA μπορούν να περιορίσουν, σε άλλοτε άλλο βαθμό, αλλά πιθανώς όχι να εξαλείψουν το φαινόμενο.[244,245] Η χρήση πιο ευαίσθητων τεχνικών PCR, αυξάνει μεν τα θετικά αποτελέσματα όμως, όπως καταδεικνύουν αρκετές μελέτες, σε αυτές τις περιπτώσεις ταυτοποιούνται συνήθως πολλαπλά παθογόνα, καθιστώντας την ερμηνεία του αποτελέσματος, και κυρίως τη λήψη κλινικών αποφάσεων όπως η επιλογή αντιβιοτικής αγωγής, δυσχερή.[25,26,28]

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΤΟΧΟΣ

Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση μιας εμπορικά διαθέσιμης μεθόδου ευρέος φάσματος, πολυπλεκτικής PCR [32] ως δείκτη για την ταχεία και ακριβή ταυτοποίηση παθογόνων σε ασθενείς με ΑΒΠ. Επιπλέον, μελετήθηκε η προγνωστική αξία της ανίχνευσης *bactDNA* στην έκβαση ασθενών με ΑΒΠ κατά τη διάρκεια και μετά την αποδρομή του επεισοδίου ΑΒΠ.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πληθυσμός μελέτης

Πρόκειται για μελέτη παρατήρησης που διενεργήθηκε στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών Ιπποκράτειο το διάστημα Σεπτέμβριο 2017 – Μάιος 2020. Η ΑΒΠ διαγνώσθηκε σύμφωνα με τις διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες. [7]. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν για 55 διαδοχικούς ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση και ΑΒΠ. Από τη μελέτη αποκλείστηκαν ασθενείς με εξωηπατική συμπαγή ή αιματολογική κακοήθεια, λοίμωξη με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, προηγηθείσα μεταμόσχευση ή άλλη ανοσοκαταστολή, πολυμικροβιακές λοιμώξεις, δευτεροπαθή βακτηριακή περιτονίτιδα και ασθενείς υπό περιτοναϊκή διάλυση. Τριάντα-έξι ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση που προσήλθαν για προγραμματισμένη εκκενωτική παρακέντηση μεγάλου όγκου μελετήθηκαν ως ομάδα ελέγχου για τον υπολογισμό της ευαισθησίας και ειδικότητας της μοριακής μεθόδου. Πέντε (13.9%) ασθενείς της ομάδας ελέγχου είχαν ιστορικό ΑΒΠ. Ο διάμεσος χρόνος από το επεισόδιο ΑΒΠ μέχρι την ένταξη στη μελέτη ήταν 8 μήνες (εύρος 1-11 μήνες). Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από το επιστημονικό συμβούλιο του νοσοκομείου. Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη ή οι νόμιμοι εκπρόσωποι τους έδωσαν

έγγραφο συγκατάθεση προ της ένταξης.

Διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση

Στους ασθενείς με ΑΒΠ, διαγνωστική παρακέντηση της ασκτικής συλλογής διενεργήθηκε κατά την προσέλευση, 48 ώρες μετά την εισαγωγή για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στην εμπειρική αντιβιοτική αγωγή καθώς και μετά την κλινική και εργαστηριακή αποδρομή του συνδρόμου. Μετά τη διάγνωση ΑΒΠ, εμπειρική αντιβιοτική αγωγή χορηγούνταν άμεσα, ενδοφλεβίως και διατηρούνταν ή τροποποιούνταν αν η αγωγή κρινόταν ως ακατάλληλη (σύμφωνα με τα αποτελέσματα του *in vitro* ελέγχου ευαισθησίας στα αντιβιοτικά) ή αν τα πολυμορφοπύρρηνα του ασκτικού υγρού στις 48 ώρες μετά την έναρξη αγωγής δεν παρουσίαζαν πτώση κατά τουλάχιστον 25%. Οι λοιμώξεις ταξινομούνταν ως σχετιζόμενες με τις υπηρεσίας υγείας όταν οι ασθενείς είχαν ιστορικό νοσηλείας τουλάχιστον 2 ημερών εντός των προηγούμενων 6 μηνών, ως νοσοκομειακές όταν εκδηλωνόταν περισσότερες από 48 ώρες μετά την εισαγωγή και ως λοιμώξεις της κοινότητας όταν διαγιγνώσκονταν στην εισαγωγή ή εντός 48 ωρών, σε ασθενείς χωρίς νοσηλεία τους προηγούμενους 6 μήνες. [246]. Η επιλογή της εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής βασιζόταν στις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες [7] και τα τοπικά επιδημιολογικά δεδομένα για τα πρότυπα αντίστασης στα αντιβιοτικά [113,114]. Η ΑΒΠ θεωρούνταν ιαθείσα όταν τα πολυμορφοπύρρηνα στο ασκτικό υγρό μετρούνταν $< 250 \times 10^9/L$ μετά από 5 ημέρες κατάλληλης αντιβιοτικής αγωγής. Η εμπειρική αγωγή καταγράφηκε, οι ασθενείς παρακολουθήθηκαν για 30 ημέρες και η θνητότητα μελετήθηκε για τις 7 και 30 ημέρες.

Συλλογή δεδομένων

Τα κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα (σε αίμα και ασκίτη) καταγράφηκαν στην εισαγωγή (αναφοράς) και σε όσους επέζησαν του οξέος επεισοδίου κατά την 8^η ημέρα μετά την εισαγωγή. Η βαρύτητα της ηπατικής νόσου αξιολογήθηκε με τα MELD και Child-Pugh scores.

Οξεία-επί-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια διαγνώσθηκε σε ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια της μελέτης CANONIC [247]. Τα λευκά αιμοσφαίρια, τα πολυμορφοπύρρηνα και τα λεμφοκύτταρα στο ασκίτικό υγρό μετρήθηκαν με μικροσκόπηση.

Τεχνική καλλιέργειας και ορισμός πολυανθεκτικών στελεχών

Τα δείγματα για τις καλλιέργειες ασκίτικού υγρού και αίματος συλλέγονταν κατά την προσέλευση, προ της έναρξης οποιασδήποτε θεραπευτικής παρέμβασής. Συγκεκριμένα, η διαγνωστική παρακέντηση και ο ενοφθαλισμός του ασκίτικού υγρού στις φιάλες αιμοκαλλιέργειας για αερόβια και αναερόβια παθογόνα, διενεργούνταν παρά την κλίνη. Ταυτοχρόνως, συλλέγονταν οι καλλιέργειες αίματος. Η αποστείρωση του δέρματος και για τις 2 διαδικασίες διενεργούνταν με % ισοπροπυλικής αλκοόλης ακολουθούμενης από 2% χλωρεξιδίνη. Και τα 2 αντισηπτικά & αφηνόταν να στεγνώσουν για τουλάχιστον 30 δευτερόλεπτα. Αντισηψία με 70% ισοπροπυλικής αλκοόλης εφαρμοζόταν και στα εσωτερικά, ελαστικά πώματα των φιαλών καλλιέργειας. Για τη διενέργεια φλεβοκέντησης και παρακέντησης ασκίτη χρησιμοποιούνταν αποστειρωμένα γάντια. Τέλος, για την περαιτέρω μείωση της πιθανότητας επιμόλυνσης, εφαρμόσθηκε η τεχνική της «διπλής βελόνης» κατά την οποία η βελόνη που χρησιμοποιούνταν για τη συλλογή του δείγματος αντικαθίστατο από νέα, αποστειρωμένη, για τον ενοφθαλισμό του υλικού στις φιάλες.

Για την αερόβια και αναερόβια καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκαν οι φιάλες BACTEC FX (Becton, Dickinson). Τα απομονωθέντα παθογόνα ταυτοποιήθηκαν με το σύστημα VITEK2 (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France). Ο έλεγχος ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά διενεργήθηκε με τη μέθοδο Kirby-Bauer, σύμφωνα με τις συστάσεις του Ινστιτούτου για τις Κλινικές και Εργαστηριακές πρακτικές (Clinical and Laboratory Standards Institute) [248]. Οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (minimum inhibitory concentration, MIC) προσδιορίστηκαν με τη χρήση του Vitek2 Compact (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France) και των MIC Test Strips

(Liofilchem, Roseto Degli Abruzzi, Italy). Τα ανθεκτικά παθογόνα ορίστηκαν σύμφωνα με τις ισχύουσες κατευθυντήριες οδηγίες. [249].

Ανίχνευση *bactDNA*

Αρχικά, επιπλέον ασκитικό υγρό συλλέχθηκε σε στείρα φιαλίδια, αποθηκεύτηκε στους -80°C και αποψύχθηκε άπαξ προ του πειράματος. Η πολυπλεκτική PCR που εφαρμόστηκε στη μελέτη είναι το SeptiFast test, (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), σχεδιασμένο για την ανίχνευση Gram-θετικών παθογόνων, (*S. aureus*, *coagulase-negative Staphylococcus*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus spp*, *E. faecium*, *E. faecalis*), Gram-αρνητικών (*E. coli*, *K. pneumoniae/oxytoca*, *S. marescens*, *E. cloacae/aerogenes*, *P. mirabilis*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*) και μυκήτων (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* and *A. fumigates*). Η ευαισθησία της μεθόδου εκτιμάται στις 30 μονάδες σχηματισμού αποικιών (colony-forming units, CFU) ανα ml για όλα τα προαναφερθέντα παθογόνα, με εξαίρεση τα *coagulase-negative Staphylococcus*, *Streptococcus spp* και *C. glabrata* για τα οποία το όριο ανίχνευσης είναι οι 100 CFU/ml [250]. Τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η ανίχνευση ευρέος φάσματος παθογόνων (άνω των 25 παθογόνων που συσχετίζονται συχνά με συστηματικές λοιμώξεις), ο σύντομος χρόνος έως το αποτέλεσμα που κυμαίνεται στις 5-6 ώρες και η ελάχιστη ανάγκη ανθρώπινης παρέμβασης [251].

Σύμφωνα με τη μεθοδολογία μας, 1.5 ml ασκитικού υγρού αναλύθηκε για κάθε ασθενή. Η εξαγωγή του DNA έγινε με το αντιδραστήριο SeptiFast Lys and Prep Kit M Grade (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) και η ενίσχυση με το σύστημα Light-Cycler® 2.0 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Οι 2 διαδικασίες διενεργήθηκαν ανεξάρτητα για να μειωθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης. Μετά την ενίσχυση, τα θετικά δείγματα προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο του φθορισμού. Τα αποτελέσματα θεωρούνταν έγκυρα όταν το αρνητικό δείγμα ελέγχου απόβαινε όντως αρνητικό. Τέλος, το λογισμικό είναι εξοπλισμένο με μια επιπλέον δικλείδα ασφαλείας για την ελαχιστοποίηση των ψευδώς-θετικών αποτελεσμάτων για *coagulase*

negative Staphylococcus και *Streptococcus spp.* Συγκεκριμένα, τα 2 μικρόβια θεωρούνται αληθώς παθογόνα και όχι αποτελέσματα επιμόλυνσης όταν οι τιμές που προκύπτουν για τη διασταρούμενη αντιδραστικότητα είναι ανώτερες του ορίου των 20. Τα ενισχυθέντα θραύσματα γενετικού υλικού ταυτοποιήθηκαν με το λογισμικό Septi-Fast Identification (Roche diagnostics, GmbH), σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά τήξης τους. Η εν λόγω μέθοδος επιτρέπει την ταυτοποίηση σε επίπεδο γένους ή είδους. Το bactDNA μελετήθηκε άπαξ κατά την προσέλευση τόσο στους ασθενείς με ΑΒΠ όσο και στην ομάδα ελέγχου.

Στατιστική ανάλυση

Οι ποσοτικές και ποιοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως διάμεσες (ενδοτεταρτημοριακό εύρος, interquartile range-IQR) και αριθμός περιπτώσεων (ποσοστό), αντιστοίχως. Οι συγκρίσεις διενεργήθηκαν με τη μέθοδο Mann Whitney U test για τις συνεχείς και Chi-square test για τις κατηγορικές μεταβλητές.

Η επιβίωση μελετήθηκε αρχικά στην 7^η ημέρα και ακολούθως στις 30 ημέρες (μετά τον αποκλεισμό ασθενών που δεν επιβίωσαν του οξέος επεισοδίου). Η μελέτη επιβίωσης διενεργήθηκε με το μοντέλο παλινδρόμησης αναλογικών κινδύνων Cox (Cox-proportional hazards regression model) και υπολογίσθηκαν οι λόγοι κινδύνου (Hazard ratios, HR) και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (confidence intervals, CI). Παράγοντες με τιμή $p < 0.05$ στην μονοπαραγοντική ανάλυση ή με κλινική σημασία (ηλικία, φύλο) συμπεριλήφθηκαν στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Στατιστικά σημαντική θεωρήθηκε η τιμή $P < 0.05$ στον αμφίπλευρο έλεγχο. Μετά τον αποκλεισμό ασθενών που κατέληξαν κατά το οξύ επεισόδιο (7 ημέρες), η αθροιστική πιθανότητα επιβίωσης για τις 30 ημέρες μελετήθηκε με τη μέθοδο Kaplan-Meier και

η σημαντικότητα των διαφορών εκφράστηκε με το Log-Rank (Mantel-Cox). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις διενεργήθηκαν με το πακέτο SPSS (version 21; SPSS Inc., Chicago, Ill., USA).

Αποτελέσματα

Χαρακτηριστικά ασθενών

Τα χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΒΠ περιγράφονται στον **πίνακα 5**. Ασθενείς με θετικές καλλιέργειες σε σύγκριση με αυτούς με αρνητικές καλλιέργειες είχαν πιο προχωρημένη ηπατική νόσο σύμφωνα με τα scores MELD και Child-Pugh, παρουσίαζαν συχνότερα ΟΕΧΗΑ και είχαν πιο έκδηλη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση τόσο στο αίμα, εκφραζόμενη ως υψηλότεροι λόγοι πολυμορφοπύρρηνα / λευκά αιμοσφαίρια (neutrophil-to-white blood cell, NWR) και πολυμορφοπύρρηνα / λεμφοκύτταρα (neutrophil-to-lymphocyte, NLR) όσο και στο ασκίτικό υγρό, εκφραζόμενη ως υψηλότερος αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων και πολυμορφοπύρρηνων. Επιπλέον, οι ασθενείς με θετικές έναντι αυτών με αρνητικές καλλιέργειες είχαν χαμηλότερη ολική πρωτεΐνη και λευκωματίνη στο ασκίτικό υγρό. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά ασθενών με θετικό έναντι αυτών με αρνητικό bactDNA, πέραν μίας τάσης για υψηλότερη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP) και για υψηλότερη επίπτωση ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Κανείς ασθενείς δεν ελάμβανε πρωτογενή ή δευτερογενή προφύλαξη για ΑΒΠ. Αποδρομή της ΑΒΠ παρατηρήθηκε σε όλους τους ασθενείς (λιγότερα από $250 \times 10^9/L$ πολυμορφοπύρρηνα στην παρακέντηση ασκίτη).

Μικροβιολογικές και μοριακές μελέτες

Οι καλλιέργειες του ασκίτικού υγρού ήταν θετικές σε 29 (52.7%) ασθενείς με ΑΒΠ (Πίνακας 2, Εικόνα 1). Gram-θετικά παθογόνα απομονώθηκαν σε 11 περιπτώσεις (37.9%). Το είδος των παθογόνων αναφέρεται στον **πίνακα 6**. Είκοσι-πέντε (75.8%) ασθενείς ταξινομήθηκαν ως έχοντες σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας ή νοσοκομειακή λοίμωξη. Σύμφωνα

με τον έλεγχο ευαισθησίας στα αντιβιοτικά, 19 ασθενείς (65.5%) υπερθεραπεύτηκαν με την εμπειρική αγωγή, 7 (24.1%) αντιμετώπισθηκαν κατάλληλα και 3 (10.3%) υποθεραπεύτηκαν **(Πίνακας 6)**.

Δεκαέξι βακτήρια ταυτοποιήθηκαν με την πολυπλεκτική PCR (29.1% ευαισθησία) στους ασθενείς με ΑΒΠ, στην πλειοψηφία (56.3%) τους Gram-θετικά. Η συνδυασμένη ευαισθησία των 2 μεθόδων για την ταυτοποίηση παθογόνων ήταν 58.2% **(Εικόνα 5)**. Η συμφωνία τους υπολογίσθηκε στο 84.6% (11/13 περιπτώσεις). Συγκεκριμένα, σε 2 περιπτώσεις, από τις καλλιέργειες αναδείχθηκε η παρουσία *E. coli* και *E. faecium* ενώ από τη μοριακή μέθοδο *E. cloacae* και *Streptococcus spp*, αντιστοίχως **(Εικόνα 6)**. Σε 3 δείγματα, οι καλλιέργειες ήταν αρνητικές αλλά η μοριακή μέθοδος ταυτοποίησε *Streptococcus spp* (2) και *E. cloacae* (1) **(Πίνακας 6)**. Το *bactDNA* στον ασκίτη ήταν αρνητικό στο σύνολο της ομάδας ελέγχου, έχοντας 100% ειδικότητα.

Το βακτηριακό DNA αναζητήθηκε επίσης στο αίμα των ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα αλλά τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά σε όλες τις περιπτώσεις.

Καμία θεραπευτική παρέμβαση δεν βασίστηκε στα αποτελέσματα της μοριακής μεθόδου, λόγω του σχεδιασμού της μελέτης. Όμως, στην περίπτωση που τα αποτελέσματα ήταν όντως γνωστά 6 ώρες μετά την προσέλευση του ασθενούς, η εμπειρική αντιβιοτική αγωγή θα τροποποιούνταν σε 8 από τις 16 (50%) με θετικό *bactDNA* (αποκλιμάκωση σε 6 και αναβάθμιση σε 2). Σε 3 περιπτώσεις, η μοριακή μέθοδος δεν μπορούσε να διακρίνει το ευαίσθητο στα αντιβιοτικά *E. coli* από το *extended-spectrum b-lactamase-positive (ESBL) E. Coli*, επομένως σε αυτές τις περιπτώσεις η αγωγή δεν θα μπορούσε να αποκλιμακωθεί με ασφάλεια **(Πίνακας 6)**.

Μελέτη επιβίωσης στις 7 και 30 ημέρες

Στην μονοπαραγοντική ανάλυση Cox, οι παράμετροι που συσχετίστηκαν με τη θνητότητα 7 ημερών περιελάμβαναν το MELD score ($P = 0.008$), την CRP ($P = 0.008$), το λόγο NWR ($P = 0.018$), το λόγος NLR ($P = 0.001$), τον αριθμό πολυμορφοπύρηνων στο ασκικικό υγρό ($P = 0.031$) και τις θετικές καλλιέργειες αίματος ($P = 0.021$). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, ως παράγοντες με αρνητική επίδραση στην έκβαση αναδείχθηκαν το MELD score (HR = 1.126, 95%CI: 1.001-1.268, $P=0.049$), και η CRP (HR = 1.023, 95%CI: 1.005-1.041, $P = 0.012$) **(Πίνακας 7)**.

Μετά τον αποκλεισμό ασθενών που δεν επιβίωσαν του οξέος επεισοδίου ($N = 8$), 7 από τους 12 και 7 από τους 35 ασθενείς κατέληξαν στις υποομάδες του θετικού και αρνητικού bactDNA αντιστοίχως, κατά το διάστημα παρακολούθησης των 30 ημερών μετά την αποδρομή της οξείας λοίμωξης. (log rank $P=0.005$) **(Εικόνα 7, Εικόνα 8, Πίνακας 2)**. Στην μονοπαραγοντική ανάλυση, οι παράμετροι που συσχετίστηκαν με την θνητότητα 30 ημερών ήταν το MELD score ($P = 0.017$), ο λόγος NWR ($P = 0.003$), ο λόγος NLR ($P=0.005$), η ΟΕΧΗΑ ($P=0.005$), τα πολυμορφοπύρηννα στο ασκικικό υγρό ($P=0.006$), η εγκεφαλοπάθεια ($P=0.016$) και το θετικό βακτηριακό DNA ($P=0.01$) **(Πίνακας 8)**. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, οι μόνες παράμετροι που συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με την έκβαση ήταν ο λόγος NLR (HR = 1.117, 95%CI: 1.026-1.216, $P=0.011$), και το θετικό bactDNA (HR = 4.142, 95%CI: 1.248-13.739, $P = 0.020$) **(Μοντέλο 1) (Πίνακας 8)**. Όταν στην πολυπαραγοντική ανάλυση εισήχθη η παράμετρος θετικό bactDNA και θετικές καλλιέργειες ασκίτη (αντί του θετικού bactDNA) **(Μοντέλο 2)**, η πιθανότητα θανάτου διπλασιάστηκε σε σύγκριση με την παρουσία, μεμονωμένα, θετικού bactDNA (HR = 8.522, 95%CI: 1.877-38.678, $P=0.006$). Και σε αυτή την περίπτωση, ο λόγος NLR αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος παράγοντας θνητότητας (HR = 1.150, 95%CI: 1.050-1.260, $P=0.003$).

Όταν στους ασθενείς που επέζησαν της ΑΒΠ, συγκρίθηκαν οι δείκτες φλεγμονώδους απάντησης την ημέρα 8 μετά την εισαγωγή μεταξύ ασθενών με θετικό έναντι αυτών με αρνητικό

bactDNA, οι πρώτοι είχαν υψηλότερους λόγους NLR ή NWR (x10) σε σύγκριση με τους δεύτερους [7.169 (4.936-11.740) vs 4.904 (2.720-8.000), P=0.045 ή 7.515 (7.000-8.180) vs 6.790 (6.180-7.560) P=0.035], αντιστοίχως] (**Εικόνα 9**).

Κατά το διάστημα παρακολούθησης των 30 ημερών, δεν καταγράφηκε νέο επεισόδιο ΑΒΠ. Τα αίτια θανάτου στις 30 ημέρες στους 22 ασθενείς ήταν τα ακόλουθα: οξεία-επί-χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια σε 13 (59.1%), σηπτική καταπληξία σε 6 (27.3%), κίρσοραγία σε 2 (9.1%) και ηπατονεφρικό σύνδρομο σε 1 (4.5%). Κατά το οξύ επεισόδιο, ο θάνατος αποδόθηκε σε σηπτική καταπληξία σε 4 (50%) ασθενείς, ηπατική ανεπάρκεια σε 3 (37.5%) και ηπατονεφρικό σύνδρομο σε 1 (12.5%).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη, η μοριακή μέθοδος δεν προσέφερε στην ταχεία και ακριβή ταυτοποίηση παθογόνων σε ασθενείς με ΑΒΠ. Ωστόσο, η ανίχνευση bactDNA αποτελούσε παράγοντα δυσμενούς έκβασης στο διάστημα παρακολούθησης των 30 ημερών, για ασθενείς που επέζησαν του οξέος επεισοδίου.

Αρχικά, μελετήσαμε την επίδραση της χρήσης μιας εμπορικά διαθέσιμης μεθόδου πολυπλεκτικής PCR στην διαχείριση ασθενών με ΑΒΠ. Η συγκεκριμένη μέθοδος σχεδιάστηκε για την ανίχνευση ευρέος φάσματος gram-θετικών και αρνητικών παθογόνων [252-254]. Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η ταχύτητα στην εξαγωγή των αποτελεσμάτων και η ανάγκη για ελάχιστη ανθρώπινη παρέμβαση [251]. Οι Appenrodt et al [32], χρησιμοποίησαν την εν λόγω μέθοδο για την ανίχνευση bactDNA σε 18 ασθενείς με και 133 χωρίς ΑΒΠ. Η ανάλυση τους κατέδειξε σχετικά χαμηλή ευαισθησία αλλά και ειδικότητα της μεθόδου. Στη δική μας μελέτη, η μοριακή μέθοδος είχε ικανοποιητική συμφωνία με τις καλλιέργειες και υψηλή ειδικότητα. Όμως υστερούσε σε ευαισθησία, ταυτοποιώντας λιγότερα παθογόνα. Επιπλέον, δεν

παρείχε τη δυνατότητα ανίχνευσης ανθεκτικών στελεχών. Για τους ανωτέρω λόγους, η συγκεκριμένη μέθοδος, με τον παρόντα σχεδιασμό της, φαίνεται πως δεν συνεισφέρει σημαντικά στην έγκαιρη ανίχνευση παθογόνων και τη βελτιστοποίηση της εμπειρικής αντιβιοτικής αγωγής στην ΑΒΠ.

Παρά την βαρύτερη ηπατική νόσο, την πιο έκδηλη φλεγμονώδη απάντηση και την υψηλότερη θνητότητα 7 ημερών στους ασθενείς με θετικές έναντι αυτών με αρνητικές καλλιέργειες, (ευρήματα συμβατά με άλλες μελέτες) [128,130], ανάλογες διαφορές δεν παρατηρήθηκαν μεταξύ των ομάδων της μοριακής μεθόδου. Όμως, καταγράφηκε τάση για υψηλότερη επίπτωση ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και υψηλότερη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη στους ασθενείς με θετικό έναντι αυτών με αρνητικό *bactDNA*, παρατηρήσεις που συνηγορούν υπέρ εντονότερης βακτηριακή μετατόπισης και συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης σε αυτή την ομάδα ασθενών.

Το *bactDNA* έχει μελετηθεί τόσο ως δείκτης λοίμωξης όσο και βακτηριακή μετατόπισης. Έχει επίσης διερευνηθεί η συσχέτιση του με την έκβαση σε ασθενείς με λοίμωξη ή ισχυρή υποψία λοίμωξης. Πιο αναλυτικά, οι Bruns et al ανίχνευσαν *bactDNA* στο 100% (5/5) των ασθενών με καλλιέργεια θετικό, πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη, στο 16.6% (1/6) αυτών με καλλιέργεια αρνητικό, πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη και στο 14.3% (8/56) αυτών με καλλιέργεια-αρνητικό μη-πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη και δεν κατέδειξαν διαφορά στην θνητότητα 3 μηνών μεταξύ των ομάδων θετικού και αρνητικού *bactDNA* στο σύνολο του πληθυσμού μελέτης. Όμως, η θνητότητα ήταν υψηλότερη όταν το θετικό *bactDNA* συνοδευόταν από ηλικία άνω των 65 ετών και πιο προχωρημένη ηπατική νόσο [22]. Παρόμοια, σε πιο πρόσφατη μελέτη τη ίδιας ομάδας, *bactDNA* ανιχνεύτηκε με πολυπλεκτική PCR στο αίμα ή / και το ασκίτικό υγρό στο 61% των ασθενών με υποψία λοίμωξης. Αν και η παρουσία του δεν αποτελούσε προγνωστικό δείκτη θνητότητας, συσχετίστηκε με τη διάγνωση ΑΒΠ ή βακτηριαιμίας, εκδήλωση ΟΕΧΗΑ, εγκεφαλοπάθεια και υψηλότερους δείκτες φλεγμονής [23].

Στην παρούσα εργασία, δεν αναδείχθηκε συσχέτιση του bactDNA με τη θνητότητα κατά το επεισόδιο της ΑΒΠ. Σε αυτό το στάδιο, η δυσμενής έκβαση συσχετιζόταν με τη βαρύτητα της ηπατικής νόσου και την οξεία φλεγμονώδη απάντηση, εκφραζόμενη με τη C-αντιδρώσα πρωτεΐνη.

Εντούτοις, παρατηρήσαμε ότι ασθενείς με ΑΒΠ και θετικό bactDNA στην εισαγωγή, μετά τη λύση του επεισοδίου της λοίμωξης, εξακολουθούσαν να έχουν δυσμενή κατάληξη κατά τον πρώτο μήνα παρακολούθησης, με το θάνατο να αποδίδεται σε επιπλοκές της ηπατικής νόσου που δεν συμπεριελάμβαναν νέα επεισόδια ΑΒΠ. Συγκεκριμένα, η θνητότητα στις ομάδες θετικού και αρνητικού bactDNA υπολογίσθηκε στο 58.3% και 20%, αντιστοίχως. Ακολουθώς, στην μονοπαραγοντική ανάλυση θνητότητας, η παρουσία bactDNA στην προσέλευση συσχετίστηκε με την πτωχή έκβαση σε όσους επέζησαν του αρχικού επεισοδίου. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, το bactDNA κατά τη εκδήλωση ΑΒΠ διατηρήθηκε ως ανεξάρτητος παράγοντας θνητότητας ακόμα και όταν σταθμίστηκε για πολλαπλές παραμέτρους, συμπεριλαμβανομένων της ηλικίας, του φύλου, του MELD score και της ηπατικής εγκεφαλοπάθειας. Πέραν του bactDNA, ο λόγος NLR αναδείχθηκε επίσης ως παράγοντας θνητότητας στο άμεσο διάστημα μετά την αποδρομή της λοίμωξης. Όταν εκτιμήσαμε εκ νέου τους έμμεσους δείκτες φλεγμονώδους απάντησης μετά την αντιμετώπιση της διαπιστωμένης λοίμωξης, οι ασθενείς με θετικό bactDNA εξακολουθούσαν να παρουσιάζουν υψηλότερους λόγους πολυμορφοπύρηνων / λεμφοκύτταρα και πολυμορφοπύρηνων προς λευκά αιμοσφαίρια αίματος σε σύγκριση με ασθενείς με αρνητικό bactDNA, παρατήρηση που συνηγορεί υπέρ εμμένουσας συστηματική φλεγμονώδους απάντησης.

Ένα ακόμη εύρημα είναι ότι η υποομάδα ασθενών με ταυτόχρονα θετικό bactDNA και καλλιέργειες ασκτικού υγρού στην εισαγωγή, που επέζησαν της ΑΒΠ, είχαν ακόμη υψηλότερο κίνδυνο βραχυπρόθεσμης θνητότητας (διπλάσιο) σε σύγκριση με ασθενείς με μεμονωμένα θετικό bactDNA. Το εύρημα αυτό ήταν εμφανές και στην πολυπαραγοντική ανάλυση, όπου η

παρουσία θετικού *bactDNA* και καλλιιεργειών (ως ενιαία παράμετρος) και ο λόγος πολυμορφοπύρηννα / λεμφοκύτταρα αίματος αναδείχθηκαν ως ανεξάρτητοι δείκτες θνητότητας, μετά από στάθμιση για πολλαπλές παραμέτρους. Πιθανώς, η ταυτόχρονη θετικότητα των 2 μεθόδων συσχετίζεται με πιο έντονη βακτηριακή αλλόθεση και συνοδό φλεγμονώδη αντίδραση που παραμένουν ακόμη και μετά την αντιμετώπιση της αρχικής λοίμωξης.

Τα ανωτέρω αποτελέσματα συσχετίζουν την ανίχνευση *bactDNA* στον ασκίτη με την παρουσία έκδηλης ανοσιακής αντίδραση που μάλιστα επιμένει και μετά την λύση της λοίμωξης. Μια πιθανή ερμηνεία για τα ευρήματα μας είναι η διαλείπουσα παρουσία θραυσμάτων βακτηριακού γενετικού υλικού στο ασκικτικό υγρό ασθενών με ανιχνεύσιμο βακτηριακό DNA. Την υπόθεση αυτή υποστηρίζουν αποτελέσματα παλαιότερης έρευνας σύμφωνα με την οποία τμήματα *bactDNA* μπορούν να ανιχνευθούν στο αίμα ασθενών με μη-πολυμορφοπυρηνικό ασκίτη για χρονικό διάστημα 24-72 ωρών, με την παρουσία τους να αποδίδεται σε επαναλαμβανόμενα επεισόδια βακτηριακής μετατόπισης [255].

Περιορισμός της μελέτης είναι ο σχετικά μικρός αριθμός ασθενών με ΑΒΠ. Όμως, εξ όσων γνωρίζουμε, αποτελεί τη μεγαλύτερη μελέτη αξιολόγησης συγκεκριμένα μιας πολυπλεκτικής PCR σε ασθενείς με ΑΒΠ [22,23,32]. Επιπλέον, είναι η πρώτη που καταδεικνύει ότι η παρουσία βακτηριακού DNA κατά τη διάγνωση ΑΒΠ, συσχετίζεται με αυξημένη βραχυπρόθεσμη θνητότητα μετά την αντιμετώπιση της λοίμωξης.

Συνοψίζοντας, η παρούσα μελέτη δεν παρέχει στοιχεία που υποστηρίζουν την εφαρμογή πολυπλεκτικής PCR στην κλινική πράξη για την ενίσχυση της ανίχνευσης των υπευθύνων παθογόνων και τη βελτιστοποίηση της επιλογής εμπειρικής αντιμικροβιακής αγωγής σε ασθενείς με ΑΒΠ. Όμως, το *bactDNA* αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος παράγοντας βραχυπρόθεσμης θνητότητας για την υποομάδα ασθενών που επέζησαν της αρχικής λοίμωξης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα (ΑΒΠ) συνοδεύεται από υψηλή θνητότητα. Στόχος της παρούσας εργασίας ήταν η αξιολόγηση του βακτηριακού δεοξυριβονουκλεοτιδικού οξέος (bacterial deoxyribonucleic-acid, bactDNA) ως μέσου για την ακριβή ταυτοποίηση παθογόνων στην ΑΒΠ και επιπλέον η μελέτη της προγνωστικής του αξίας κατά τη διάρκεια και μετά από επεισόδιο ΑΒΠ.

Μέθοδος: Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν διαδοχικοί ασθενείς με ΑΒΠ (ομάδα ΑΒΠ) και ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση χωρίς ΑΒΠ (ομάδα ελέγχου). Κλασσικές καλλιεργητικές τεχνικές εφαρμόστηκαν για την απομόνωση και ταυτοποίηση παθογόνων από το αίμα και το ασκитικό υγρό. Η μοριακή μέθοδος SeptiFast test (Roche-Diagnostics) εφαρμόστηκε για την ανίχνευση παθογόνων απευθείας στο ασκитικό υγρό. Η θνητότητα μελετήθηκε στην ομάδα της ΑΒΠ.

Αποτελέσματα: Πενήντα-πέντε ασθενείς [διάμεση ηλικία 60 (ενδοτεταρτημοριακό εύρος 53-74), 69.1% άνδρες, MELD score 18 (13-29)] με ΑΒΠ εντάχθηκαν προοπτικά. Οι καλλιέργειες του ασκитικού υγρού ήταν θετικές στο 52.7% (17.2% ανθεκτικά παθογόνα) και το bactDNA στο 29.1% των ασθενών (συνδυασμένη ευαισθησία 58.2%). Η συμφωνία των 2 μεθόδων ήταν 84.6%. Τρεις ασθενείς με αρνητικές καλλιέργειες είχαν θετικό. Το bactDNA ήταν αρνητικό στο σύνολο των 36 ασθενών της ομάδας ελέγχου (100% ειδικότητα). Η μοριακή μέθοδος δεν παρείχε τη δυνατότητα ανίχνευσης ανθεκτικών στελεχών. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση Cox για την επιβίωση στις 7 ημέρες, ως παράμετροι με ανεξάρτητη συσχέτιση με πτωχή πρόγνωση αναδείχθηκαν το MELD score ($P=0.049$) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ($P=0.012$). Μετά τον αποκλεισμό ασθενών που απεβίωσαν την πρώτη εβδομάδα μετά τη διάγνωση ΑΒΠ, ασθενείς με θετικό bactDNA στην εισαγωγή, είχαν δυσμενέστερη πρόγνωση σε σύγκριση με ασθενείς με αρνητικό (log rank $P=0.005$). Οι παράμετροι που συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με τη θνητότητα 30-ημερών ήταν ο λόγος πολυμορφοπύρρηνα / λεμφοκύτταρα αίματος ($P=0.011$) και το θετικό bactDNA ($P=0.020$).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα δεν υποστηρίζουν την χρήση του bactDNA για την βελτίωση της ταυτοποίησης παθογόνων στην ΑΒΠ. Όμως, αποτελεί δείκτη θνητότητας 30 ημερών σε ασθενείς που επιβιώνουν του οξέος επεισοδίου.

ABSTRACT

Background: Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is associated with high mortality-rate. The aim was to investigate if bacterial deoxyribonucleic-acid (bactDNA) could offer an accurate identification of pathogens and explore its prognostic role during and early after an SBP episode.

Methods: Consecutive patients with SBP (SBP-group) and patients with decompensated cirrhosis without SBP/bacterascites (control-group) were enrolled. Standard culture methodology was used for isolation and identification of pathogens from blood and ascitic-fluid (AF). SeptiFast test (Roche-Diagnostics) was used to identify bactDNA directly from AF. Mortality was studied in the SBP-group.

Results: Fifty-five patients [median age 60 (IQR 53-74), 69.1% male, MELD score 18 (13-29)] with SBP were prospectively included. AF-cultures were positive in 52.7% (17.2% drug-resistant bacteria) and bactDNA in 29.1% (58.2% combined sensitivity). BactDNA results were 84.6% concordant with AF-cultures. Three patients had positive bactDNA in culture-negative SBP-group. BactDNA was negative in all 36 of the control-group (100% specificity). No resistance-study was available by the bactDNA method. In Cox multivariate regression analysis for 7-day survival, factors adversely affecting outcome were MELD ($P=0.049$) and C-reactive-protein ($P=0.012$). After excluding cases that died during the first week post-admission, patients with positive bactDNA had a poor prognosis compared to those with negative (log rank $P=0.005$). Variables independently associated with 30-day-mortality were neutrophil-to-lymphocyte ratio ($P=0.011$) and positive bactDNA ($P=0.020$).

Conclusion: No evidence was provided for the usefulness of bactDNA in order to improve bacterial identification during SBP-episode. However, bactDNA was a predictor of 30-day mortality in the subset of patients who recovered from the infection episode.

Πίνακας 1. Μελέτες της κλινικής σημασίας της θετικής καλλιέργειας ασκτικού υγρού σε ασθενείς με πολυμορφοφυρηνικό ασκίτη

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Θνητότητα ABΠ vs ΠΑ	Βαρύτητα ηπατικής νόσου ABΠ vs ΠΑ	Βαρύτητα φλεγμονώδους αντίδρασης ABΠ vs ΠΑ	Σχόλια
Na SH et al, 2016 [134]	Αναδρομική	259 ABΠ, 274 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> • Νοσοκομειακή: 23.2% vs 19.0%, (p=0.236) • 7 ημερών: 9.4% vs 4.5% (p=0.027). • 30 ημερών: 22.1% vs 17.5% (p=0.205) • 90 ημερών: 36.1% vs 36.4% (p=0.941) 	<ul style="list-style-type: none"> • Υψηλότερο MELD εισαγωγής (p=0.004). • Υψηλότερο Child-Pugh score (p=0.001) • Όχι διαφορά σε εγκεφαλοπάθεια • Όχι διαφορά σε MELD 1-4 μήνες προ εισαγωγής (p=0.197) 	Υψηλότερα ουδετερόφιλα ασκίτη (p<0.001).	<ul style="list-style-type: none"> • Φιάλες αιμοκαλλιέργειας • ΗΚΚ 51.4% στην ABΠ και 53.3% στον ΠΑ. • Άλλες συμπαγείς κακοήθειες: 6.9% ABΠ και 5.1% στον ΠΑ.
Kamani L et al, 2008 [128]	Αναδρομική	44 ABΠ, 143 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> • Νοσοκομειακή: 25% vs 8.4% (p=0.003) • Κρεατινίνη και θετικές καλλιέργειες αίματος ανεξάρτητοι παράγοντες θνητότητας στην ABΠ 	<ul style="list-style-type: none"> • Υψηλότερο Child-Pugh (p<0.001) • Χαμηλότερα αιμοπετάλια (p=0.005), • Υψηλότερη κρεατινίνη (p=0.003), • Υψηλότερο PT (p=0.04) 	Καμία διαφορά	<ul style="list-style-type: none"> • 5 ml σε έκαστο μπουκάλι ζεύγους αιμοκαλλιέργειας. • ΗΚΚ 15.9% στην ABΠ, 27.3% στον ΠΑ
al Amri SM et al, 1994 [129]	Αναδρομική	18 ABΠ, 19 ΠΑ	Νοσοκομειακή: 50% vs 16%, (p<0.03)	<ul style="list-style-type: none"> • Υψηλότερο Child-Pugh (p=0.001) • Υψηλότερη χολερυθρίνη (p<0.001). • Υψηλότερη κρεατινίνη αλλά όχι σημαντικά 	Καμία διαφορά	Μη χρήση φιαλών αιμοκαλλιέργειας

Πίνακας 1. Συνέχεια

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Θνητότητα ABΠ vs ΠΑ	Βαρύτητα ηπατικής νόσου ABΠ vs ΠΑ	Βαρύτητα φλεγμονώδους αντίδρασης ABΠ vs ΠΑ	Σχόλια
Peletier G et al, 1990 [130]	Προοπτική	38 ABΠ, 15 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> •Νοσοκομειακή : 50% vs 20% (p<0.05) •1 μήνα: 50% vs 20%, •6 μηνών: 61% vs 33% •1 έτος: 75% vs 41% 	<ul style="list-style-type: none"> •Υψηλότερη κρεατινίνη (p<0.03). •Υψηλότερη χολερυθρίνη αλλά όχι στατιστικά σημαντικά. •Συχνότερη ηπατική εγκεφαλοπάθεια αλλά όχι σημαντικά 	<ul style="list-style-type: none"> •Πιο υψηλά λευκά και πολυμορφοπύρρηνα στον ασκίτη •Όχι διαφορά στην ολική πρωτεΐνη. 	10 ml σε έκαστη φιάλη ζεύγους αιμοκαλλιέργειας.
Kim SU et al, 2009 [131]	Προοπτική	37 ABΠ, 93 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> •Νοσοκομειακή: 16% vs 4.3% (p=0.031) •1 μήνα: 3.2% έναντι 3.4% (p=0.999) •6 μήνες: 48.4% vs 43.8% (p=0.680) •1 έτος: 71% vs 61.8% (p=0.393). 	<ul style="list-style-type: none"> •Καμία διαφορά σε ιστορικό και βαρύτητα ηπατικής νόσου. •Όχι διαφορά σε ηπατική εγκεφαλοπάθεια 	Καμία σε ορό ή ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> •10 ml σε έκαστη φιάλη ζεύγους αιμοκαλλιέργειας •Μόλις 15.4% λάμβαναν αντιική αγωγή για την ηπατίτιδα Β και 30% είχαν ανιχνεύσιμο HBV-DNA κατά τη νοσηλεία.
Terg R et al, 1992 [132]	Προοπτική	36 ABΠ, 28 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> •Νοσοκομειακή: 36% vs 46% (p<0.05), •1 μήνα: 25% vs 14% (μη σημαντική) •1 έτος: 68% vs 69% (μη σημαντική) 	Καμία	Καμία	10 ml σε έκαστη φιάλη ζεύγους αιμοκαλλιέργειας.
Runyon BA et al, 1984 [133]	Αναδρομική	33 ABΠ, 18 ΠΑ	<ul style="list-style-type: none"> •Νοσοκομειακή: 70% vs 50% (μη σημαντική) 	Καμία. Υψηλότερη κρεατινίνη και συχνότερη ηπατική εγκεφαλοπάθεια αλλά χωρίς σημαντική διαφορά.	Καμία	<ul style="list-style-type: none"> •Μη χρήση φιάλης αιμοκαλλιέργειας •Όριο για διάγνωση λοίμωξης τα 500 πολυμορφοπύρρηνα/mm³

ABΠ: Αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, ΠΑ: πολυμορφοπυρηνικός ασκίτης

Πίνακας 2. Δείκτες βακτηριακής μετατόπισης στην κίρρωση (από Alexoroulou et al, τροποποιημένο [179])

Δείκτης BT/ (παραγωγή)	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ορού (ήπαρ)	Εύκολη μέτρηση Χαμηλό κόστος Σταθερά υψηλά επίπεδα εν απουσία λοίμωξης, προβλέπουν τη θνητότητα Υψηλά επίπεδα προβλέπουν την ανάπτυξη λοίμωξης	Έλλειψη ειδικότητας Πιθανώς μειωμένη έκφραση σε προχωρημένη ηπατική νόσο Μεγάλο εύρος διακύμανσης στις προτεινόμενες διακριτικές τιμές
Προκαλσιτονίνη (Ουδετερόφιλα, ήπαρ, θυρεοειδής αδένας)	Τα επίπεδα στον ασκίτη ίσως διαφέρουν ανά αιτία ηπατικής νόσου Χαμηλό κόστος	Έλλειψη ειδικότητας Μη συσχέτιση με την ηπατική εγκεφαλοπάθεια Μεγάλο εύρος διακύμανσης στις προτεινόμενες διακριτικές τιμές Διαφορετική αξιοπιστία αναλόγως της αιτίας της ηπατικής νόσου
Καλπροτεκτίνη (Ουδετερόφιλα)	Εύκολη μέτρηση Τα επίπεδα στα κόπρανα σχετίζονται με το στάδιο της ηπατικής νόσου, την ηπατική εγκεφαλοπάθεια και την ΑΒΠ Τα επίπεδα της προβλέπουν τη θνητότητα	Τα επίπεδα ορού δε διακρίνουν τους ασθενείς με κίρρωση Οι μελέτες αφορούν κυρίως τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Ελλιπής μελέτη στη ΒΤ της κίρρωσης.
LBP	Μεγάλος χρόνος ημίσειας ζωής Συσχέτιση με τα επίπεδα κυτταροκινών Συσχέτιση με τη βαρύτητα της ηπατικής βλάβης και την πυλαία υπέρταση Υψηλά επίπεδα αναφοράς προβλέπουν την ανάπτυξη λοίμωξης	Έλλειψη ειδικότητας για ΒΤ-αύξηση και σε λοιμώξεις Επαγωγή μόνο από gram αρνητικά βακτήρια
Διαλυτός CD14 (Μακροφάγα)	Συσχέτιση με το βαθμό ίνωσης Προγνωστικός δείκτης εξέλιξης της ίνωσης	Λίγες μελέτες στην κίρρωση
ANCA IgA (Ουδετερόφιλα)	Συσχέτιση με προχωρημένη νόσο και ασκίτική συλλογή Πρόβλεψη πρώτης λοιμώδους επιπλοκής	Μεμονωμένη μελέτη
B-ντεφενσίνη-1 ορού (επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα Paneth)	Διάκριση ασθενών με κίρρωση Συσχέτιση με τον sCD14 Αξιόπιστη πρόβλεψη θνητότητας σε ασθενείς με οξεία επί χρόνιας ηπατική ανεπάρκεια	Λίγα δεδομένα στην κίρρωση Έλλειψη πιστοποιημένης, καθολικά διαδεδομένης διαδικασίας μέτρησης
LPS (Gram αρνητικά βακτήρια)	Συσχέτιση με τη βαρύτητα ηπατικής βλάβης Συσχέτιση με τη φλεγμονώδη αντίδραση	Μικρός χρόνος ημίσειας ζωής Ευρεία διακύμανση στα ποσοστά ανίχνευσης
Βακτηριακό DNA (βακτήρια)	Μεγάλος χρόνος ημίσειας ζωής Συσχέτιση με τη φλεγμονώδη αντίδραση Συσχέτιση με τις αιμοδυναμικές παραμέτρους Συσχέτιση με τη θνητότητα	Ευρεία διακύμανση στα ποσοστά ανίχνευσης Μικρά ποσοστά ανίχνευσης σε εξωτερικούς ασθενείς

LBP: lipopolysaccharide-binding protein, συνδετική πρωτεΐνη της λιποπολυσακχαρίδης, LPS:lipopolysaccharide- λιποπολυσακχαρίδη

Πίνακας 3. Μελέτες του bacterial DNA σε κίρρωτικούς ασθενείς χωρίς λοίμωξη

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Μέθοδος ανίχνευσης
Rodríguez-Laiz GP et al, 2019 [239]	Προοπτική	100 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση ήπατος	<ul style="list-style-type: none"> Συσχέτιση βακτηριακού DNA στον ορό με τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών Αξιολόγηση του βακτηριακού DNA στον ορό ως δείκτη πρόγνωσης επιπλοκών σε 1 έτος 	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Caro E et al, 2016 [240]	Προοπτική	77 κίρρωτικοί ασθενείς με βακτηριακό DNA στον ορό ή τον ασκίτη	Συσχέτιση βακτηριακού DNA με τη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Rogers GB et al, 2013 [238]	Προοπτική	25 κίρρωτικοί ασθενείς με ασκίτη	Επίπτωση ανίχνευσης βακτηριακού DNA στον ασκίτη και ταυτοποίηση μικροοργανισμών	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-TCCTACGGGAGGCAGCAGT-3 5-GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3 5-CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3 Ταυτοποίηση στελεχών: Bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP)
Sersté T et al, 2011 [237]	Προοπτική	31 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη, χωρίς λοίμωξη	Επίπτωση ανίχνευσης βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη	5-TCAAAKGAATTGACG GGGGC-3; 5-GCCCGGGAACGTATTCAC-3 (Eurogentec, Angers, Γαλλία)
Bellot P et al, 2010 [242]	Προοπτική	75 ασθενείς με κίρρωση (55 με ασκίτη) χωρίς λοίμωξη	Σύγκριση των αιμοδυναμικών χαρακτηριστικών ασθενών με θετικό ή αρνητικό βακτηριακό DNA	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Zapater P et al, 2008 [20]	Προοπτική	156 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη, χωρίς λοίμωξη	Αξιολόγηση του βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη ως δείκτη πρόγνωσης θνητότητας και εμφάνισης ΑΒΠ σε 12 μήνες	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)

Πίνακας 3. Συνέχεια

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Μέθοδος ανίχνευσης
EI-Nagaar MM et al, 2008 [21]	Προοπτική	34 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη, χωρίς λοίμωξη	<ul style="list-style-type: none"> •Συσχέτιση βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη με τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών •Αξιολόγηση του βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη ως δείκτη πρόγνωσης θνητότητας, εμφάνισης ΑΒΠ ή ΗΝΣ σε 6 μήνες 	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Francés R et al, 2008 [235]	Προοπτική	226 κίρρωτικοί ασθενείς με ασκίτη χωρίς λοίμωξη	Επίπτωση ανίχνευσης βακτηριακού DNA στον ορό	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Francés R et al, 2004 [231]	Προοπτική	26 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη	Συσχέτιση του είδους του παθογόνου με τη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)
Such J et al, 2002 [236]	Προοπτική	28 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη	Επίπτωση ανίχνευσης βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη	16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία)

Πίνακας 4. Μελέτες του bacterial DNA στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Ποσοστό θετικότητας	Μέθοδος ανίχνευσης
Malli E et al, 2019 [24]	Προοπτική	32 κίρρωτικοί ασθενείς με ΑΒΠ	Σύγκριση ευαισθησίας και ειδικότητας κλασικών καλλιιεργειών με την PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Θετική καλλιέργεια: 4/32 (12.5%) • Θετικό bactDNA: 1/32 (3.1%) Ευαισθησία: 25%, Ειδικότητα: 100% 	Ποιοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCA-3' 5'-ACGGCGACTGCTGCTGGCAC-3' (QIAGEN, Hilden, Γερμανία) Ταυτοποίηση: sequencing
Bruns T et al, 2016 [23]	Προοπτική	218 ασθενείς με κίρρωση και σημεία λοίμωξης ή/και SIRS <ul style="list-style-type: none"> • 42 εξ αυτών με ΠΑ 	Αξιολόγηση του βακτηριακού DNA στον ορό ή τον ασκίτη ως δείκτη πρόγνωσης θνητότητας στις 90 ημέρες	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργεια ασκίτη θετική: 16/42 (38.1%) • Θετικό bactDNA σε αίμα ή ασκίτη: 76%. • Σε 176 ασθενείς χωρίς ΠΑ: 40% θετικό bactDNA ασκίτη <ul style="list-style-type: none"> ❖ Παράγοντες θνητότητας: <ul style="list-style-type: none"> - ΠΑ - ΟΕΧΗΑ - ↑ δείκτες φλεγμονής ❖ Συσχέτιση bactDNA: <ul style="list-style-type: none"> - ΟΕΧΗΑ - Ηπατική εγκεφαλοπάθεια 	Ποιοτική Multiplex PCR VYOO multiplex PCR system, Jena, Γερμανία), όχι απευθείας στο υλικό του ασκίτη. Χαμηλή συμφωνία αποτελεσμάτων.
Feng Y et al, 2015 [25]	Προοπτική	7 κίρρωτικοί ασθενείς με ασκίτη <ul style="list-style-type: none"> • 2/7 ΠΑ • 1/7 ΒΑ 	Μελέτη του μικροβιώματος του ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> • Θετική καλλιέργεια: 0/2 σε ΠΑ 1/5 σε μη ΠΑ • BactDNA θετικό: 1/1 ΒΑ, πολλαπλά παθογόνα. • Whole genome Shotgun: 7/7 πολλαπλά βακτηριακά DNA. 	Ποιοτική και ποσοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5- ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT-3 5-ACCGCGGCTGCTGGCAC-3 Ταυτοποίηση: Next generation sequencing (San Diego, CA, USA)
Krohn S et al, 2014 [26]	Προοπτική	356 δείγματα από 174 ασθενείς με ασκίτη: 42 με ΠΑ	Μελέτη του μικροβιώματος του ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> • ΠΑ (>500 PMNs): <ul style="list-style-type: none"> - Καλλιέργεια θετική: 3/42 (7.1%). - BactDNA θετικό: 20/42 (47.6%). • Μη ΠΑ (≤500 PMNs): <ul style="list-style-type: none"> - Καλλιέργεια θετική: 3/302 (1%) - BactDNA θετικό: 105/302 (30.9%) ❖ Όχι ανάλυση κλινικής σημασίας 	Ποιοτική και ποσοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: Έναντι των μεταβαλλόμενων περιοχών V3 και V4. (Mastermix 16S Complete kit (Molzym, Bremen, Γερμανία) Ταυτοποίηση: direct sequencing and T-RFLP

Πίνακας 4. Συνέχεια

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Ποσοστό θετικότητας	Μέθοδος ανίχνευσης
Hardick J et al, 2012 [30]	Προοπτική	106 κίρρωτικοί ασθενείς με πιθανή ΑΒΠ, 98/106 χαμηλά πολυμορφοτύρηνα (ποιοτική εκτίμηση)	Σύγκριση ευαισθησίας και ειδικότητας κλασσικών καλλιέργειών με την PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργειες θετικές: 16% (17/106) • Θετικό bactDNA: 19,8% (21/106) Ευαισθησία 100%, Ειδικότητα 91.5%. Συμφωνία 70.6%	Ποιοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5'-TGGAGCATGTGGTTTAATTCTGA-3' 5'-TGCGGGACTTAACCCAACA-3' 5' VIC-CACGAGCTGACGACARCCATGCA-MGBNFQ 3' Applied Biosystems, Foster City, CA Ταυτοποίηση στελεχών: High-Resolution Melt Analysis (Idaho Technologies, Salt Lake City, UT)
Rogers GB et al, 2011 [28]	Προοπτική	29 κίρρωτικοί ασθενείς με ασκίτη: 3 ΒΑ	Επίπτωση ανίχνευσης βακτηριικού DNA στον ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργειες θετικές: 3/29 • Θετικό bactDNA: 29/29 ❖ Σε 3 δείγματα με T-RFLP, πολυμικροβιακή ανάπτυξη. ❖ Όχι αξιολόγηση κλινικής σημασίας 	Ποσοτική και ποιοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5'-TCCTACGGGAGGCAGCAGT-3' 5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3' 5'-FAM-CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-TAMRA-3' (QIAGEN, Crawley, Ηνωμένο Βασίλειο) Ταυτοποίηση στελεχών: Ανίχνευση βακτηριακών ιχνών με μελέτη των πολυμορφισμών του μήκους του terminal restriction fragment (terminal restriction fragment length Polymorphism, T-RFLP) Ανάλυση αλληλουχίας 16 S ριβοσωμικού DNA

Πίνακας 4. Συνέχεια

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Ποσοστό θετικότητας	Μέθοδος ανίχνευσης
Soriano et al, 2011 [27]	Προοπτική	55 κίρρωτικοί ασθενείς με ΑΒΠ 20 κίρρωτικοί ασθενείς χωρίς ΑΒΠ.	Σύγκριση ευαισθησίας και ειδικότητας κλασσικών καλλιεργείων με την PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Θετικές καλλιέργειες: 25/55 (45.5%) • Θετικό bactDNA: 70.9%. - Ειδικότητα 40% (12/20 θετική σε μη ΠΑ) - Ταυτοποίηση παθογόνου σε 24/39 περιπτώσεις. - Συμφωνία με καλλιέργεια σε 8/12 περιπτώσεις ΑΒΠ. ❖ Θετικό DNA σε ΑΒΠ: - ↑ MELD (όχι στατιστικά σημαντικά) - ↑ λευκά ορού και πολυμορφοπύρηνα ασκίτη - ↑ κρεατινίνη. - Τάση για ↑ θνητότητα ενδονοσοκομειακά και στο τρίμηνο. - Όχι πολυπαραγοντική ανάλυση. 	Ποιοτική 16s 16 S ριβοσωμικό DNA 5'-CCACACTGGGACTGAGACACGG-3' 5'-CAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGT-3' 5'-TTAGCCGCTTCCTTCAACTTCACCT-3' Sequencing ανάλυση (Corbett Robotics, Brisbane, QLD, Αυστραλία)
Arpenrodt B et al, 2010 [32]	Προοπτική	151 ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη: • 18 ΠΑ • 2 ΒΑ	Αξιολόγηση κλινικής σημασίας της εφαρμογής PCR σε ασθενείς με κίρρωση και ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργεια θετική: 5/18 (27.5%) ΠΑ • Θετικό bactDNA: 5/18 (27.8%) ΠΑ Ειδικότητα: 90.2% Συμφωνία με καλλιέργειες στην ΑΒΠ: 75% 	Ποιοτική SeptiFast (Roche Diagnostics, Mannheim, Γερμανία)
Bruns T et al, 2009 [22]	Προοπτική	68 κίρρωτικοί ασθενείς με ασκίτη: • 11 ΠΑ, οι 5 θετική καλλιέργεια	Σύγκριση ευαισθησίας και ειδικότητας κλασσικών καλλιεργείων με την PCR Αξιολόγηση της προγνωστικής σημασίας της ανίχνευσης βακτηριακού DNA στον ασκίτη	<ul style="list-style-type: none"> • Θετική καλλιέργεια: 5/11 (45.5%) • Θετικό bactDNA: 6/11 (54.5%) Ειδικότητα 85.7% (8/56 θετικό σε μη ΠΑ με αρνητική καλλιέργεια). ❖ Όχι διαφορά στη θνητότητα 90 ημερών μεταξύ DNA θετικών-αρνητικών. 	Ποιοτική VYOOs multiplex PCR detection system (SIRS-Lab, Jena, Γερμανία), μετά από εξαγωγή του bacterial DNA. Όχι άμεση εφαρμογή στο δείγμα

Πίνακας 4. Συνέχεια

Συγγραφέας	Είδος μελέτης	Πληθυσμός Μελέτης	Πρωτεύον καταληκτικό σημείο	Ποσοστό θετικότητας	Μέθοδος ανίχνευσης
Sugihara T et al, 2009 [31]	Προοπτική	48 δείγματα από 37 κίρρωτικούς ασθενείς με ασκίτη: <ul style="list-style-type: none"> • ΠΑ 9/48 • ΒΑ 4/48. 	Σύγκριση ευαισθησίας και ειδικότητας κλασσικών καλλιιεργειών με την PCR	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργεια θετική: 69% (44.4% εξαιρώντας το ΒΑ) • BactDNA θετικό: 53.8% (6/8 ΑΒΠ ή ΒΑ, 1/5 ΠΑ). Ειδικότητα 100%. ❖ Όχι συσχέτιση bactDNA με την έκβαση. 	Ποιοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Ίδιος σχεδιασμός εκκινητών έναντι των 500 πρώτων ζευγών βασεων του 16 S ρDNA και των μεταβαλλόμενων περιοχών 1,2 και 3 Ταυτοποίηση: sequencing
Vieira SM et al, 2007 [29]	Αναδρομική	40 δείγματα από 31 ασθενείς με ασκίτη πυλαίας υπέρτασης, 24 κίρρωτικοί: <ul style="list-style-type: none"> • 8 ΠΑ • 4 ΒΑ 	Αξιολόγηση αξιοπιστίας PCR για την διάγνωση ΑΒΠ	<ul style="list-style-type: none"> • Καλλιέργεια θετική: 4/8 (50%) ΑΒΠ. • Θετικό bactDNA: 7/8 ΑΒΠ ¾ ΒΑ, 8/28 μη ΠΑ Ευαισθησία 83.0% Ειδικότητα 71.4%. ❖ Μη συσχέτιση θετικής PCR με εργαστηριακά χαρακτηριστικά , βαρύτητα ηπατικής νόσου και θνητότητα 3 μηνών σε μη ΠΑ 	Ποιοτική 16 S ριβοσωμικό DNA Εκκινητές: 5-AGAGTTTTCATCATGGCTCAG-3 5-ACCGCGACTGCTGCTGGCAC-3 (QIAGEN, Hilden, Γερμανία) Ταυτοποίηση: Όχι

ΠΑ: Πολυμορφοποιητικός ασκίτης, ΒΑ: Βακτηριοασκίτης

Πίνακας 5. Επιδημιολογικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της καλλιέργειας του ασπιτικού υγρού και του bacterial DNA

	Σύνολο (N=55)	Θετική καλλιέργεια (N=29)	Αρνητική καλλιέργεια (N=26)	P value	Θετικό Bacterial DNA (N=16)	Αρνητικό Bacterial DNA (N=39)	P value
Διάμεση τιμή (Ενδοτεταρτημοριακό εύρος) ή Αριθμός (Ποσοστό)							
Ηλικία	60 (53-74)	60 (52-75)	61 (55-71)	0.813	64 (53-78)	60 (53-69)	0.197
Φύλο (♂)	38 (69.1%)	22 (75.9%)	16 (61.5%)	0.251	11 (68.8%)	27 (69.2%)	0.972
Αιτιολογία ηπατικής νόσου							
Αλκοολική	29 (52.7%)	18 (62.1%)	11 (42.3%)	0.329	10 (62.5%)	19 (48.7%)	0.581
Ιογενής	11 (20.0%)	5 (17.2%)	6 (23.1%)		2 (12.5%)	9 (23.1%)	
Άλλη	15 (27.3%)	6 (20.7%)	9 (34.6%)		4 (25.0%)	11 (28.2%)	
Βαρύτητα ηπατικής νόσου							
MELD score	18 (13-29)	25 (15-30)	15 (10-20)	0.003	23 (15-31)	17 (13-29)	0.239
Child-Pugh score	10 (9-12)	11 (10-13)	10 (8-11)	0.002	11 (10-13)	10 (9-12)	0.329
A	0			0.036			0.465
B	14 (25.5%)	4 (13.8%)	10 (38.5%)		3 (18.8%)	11 (28.2%)	
C	41 (74.5%)	25 (86.2%)	16 (61.5%)		13 (81.2%)	28 (71.8%)	
ΟΕΧΗΑ	21 (38.2%)	16 (55.2%)	5 (19.2%)	0.006	8 (50.0%)	13 (33.3%)	0.248
Εγκεφαλοπάθεια	34 (61.8%)	23 (79.3%)	11 (42.3%)	0.005	13 (81.3%)	21 (53.8%)	0.057
Φλεγμονώδης αντίδραση (αίμα)							
Λευκά αιμοσφαίρια $\times 10^9/L$	7.65 (5.49-10.61)	7.92 (6.62-11.21)	6.75 (5.05-10.16)	0.206	7.27 (5.38-11.39)	7.66 (5.71-11.49)	0.897
NWR ($\times 10$)	8.0 (7.5-8.6)	8.2 (7.8-8.9)	7.7 (6.9-8.5)	0.013	8.2 (7.6-8.8)	7.9 (7.4-8.5)	0.364
NLR	10.9 (6.5-17.8)	13.0 (9.4-18.0)	6.9 (4.5-13.5)	0.005	11.8 (7.9-17.9)	9.7 (5.8-17.8)	0.374
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (mg/L)	46 (21-119)	85 (28-133)	34 (17-83)	0.055	109 (31-133)	36 (19-87)	0.092
Θετική καλλιέργεια αίματος	7 (12.7%)	7 (24.1%)	0 (0.0%)	0.007	4 (25.0%)	3 (7.7%)	0.080
Χαρακτηριστικά ασκίτη							
Αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων $\times 10^9/L$	1.65 (0.07-3.09)	2.50 (1.14-4.55)	0.89 (619-1.80)	0.001	2.10 (1.24-4.57)	1.00 (670-2.70)	0.092
Αριθμός πολυμορφοπύρηνων $\times 10^9/L$	0.81 (0.42-2.32)	1.73 (0.81-3.55)	0.50 (0.36-0.83)	<0.001	1.68 (0.76-3.04)	0.66 (0.40-1.87)	0.097
Ολική πρωτεΐνη (g/dl)	1.3 (0.9-2.1)	1.2 (0.9-1.6)	1.9 (1.2-2.6)	0.005	1.7 (1.1-2.1)	1.3 (0.9-2.2)	0.562
Λευκωματίνη (g/dl)	0.8 (0.5-1.1)	0.6 (0.4-0.9)	1 (0.7-1.3)	0.005	0.8 (0.4-1.1)	0.7 (0.5-1.1)	0.758

Θνητότητα							
7 ημέρες	8 (14.5%)	7 (24.1%)	1 (3.8%)	0.033	4 (25.0%)	4 (10.3%)	0.159
8-30 ημέρες (47 ασθενείς)	14 (29.8%)	8 (36.4%)	6 (24%)	0.355	7 (58.3%)	7 (20.0%)	0.012

NWR: neutrophils to white blood cells ratio – λόγος πολυμορφοπύρηνων προς λευκά αιμοσφαίρια αίματος, NLR: neutrophils to lymphocytes ratio – λόγος πολυμορφοπύρηνων προς λεμφοκύτταρα, ΟΕΧΗΑ: Οξεία – επί-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια

Πίνακας 6. Παθογόνα που ταυτοποιήθηκαν, αποτελέσματα bacterial DNA και αξιολόγηση της εμπειρικής αγωγής στους ασθενείς με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα

Παθογόνο από την καλλιέργεια	Παθογόνο από το bactDNA	HCA/HA	Εμπειρική αγωγή	Αντιβιοτική αγωγή: Κατάλληλη/ Υπό/Υπερ- θεραπεία σύμφωνα με τις καλλιέργειες	Πιθανή τροποποίηση αγωγής σύμφωνα με το bactDNA	Έκβαση ημέρα 7
<i>S. Aureus MRSA*</i>	-	N	Meropenem/vancomycin	Υπερ		Επιβίωσε
<i>S. mitis</i>	-	N	Meropenem	Υπερ		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	-	N	Piperacillin/tazobactam	Υπερ		Επιβίωσε
<i>S. ovis</i>	<i>Streptococcus spp</i>	N	Meropenem/vancomycin	Υπερ	Αποκλιμάκωση	Επιβίωσε
<i>S. paucimobilis</i>	-	O	Ceftriaxone	K		Επιβίωσε
<i>L. monocytogenes</i>	-	O	Ceftriaxone	Υπό		Επιβίωσε
<i>P. aeruginosa*</i>	-	N	Meropenem	K		Επιβίωσε
<i>P. aeruginosa*</i>	<i>P. aeruginosa</i>	N	Meropenem	K	Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
<i>S. gallolyticus</i>	-	O	Ceftriaxone	K		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	N	Meropenem	Υπερ	Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
<i>S. mitis</i>	-	N	Piperacillin/tazobactam	Υπερ		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	-	N	Meropenem	Υπερ		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	-	N	Meropenem/daptomycin	Υπερ		Επιβίωσε
<i>K. pneumoniae</i>	-	N	Meropenem	K		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	-	N	Meropenem/daptomycin	Υπερ		Επιβίωσε
<i>E. faecalis</i>	<i>Streptococcus spp</i>	N	Meropenem	Υπερ	Αποκλιμάκωση	Επιβίωσε
<i>S. marcescens</i>	<i>S. marcescens</i>	O	Ceftriaxone	K	Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	O	Ceftriaxone	K	Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
<i>E. coli ESBL*</i>	-	O	Ceftriaxone	Υπό		Επιβίωσε
<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	N	Piperacillin/tazobactam	Υπερ	Αναβάθμιση	Επιβίωσε
<i>K. pneumoniae</i>	-	N	Meropenem	Υπερ		Θάνατος
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	N	Meropenem	Υπερ	Μη τροποποίηση	Θάνατος
<i>E. coli</i>	-	N	Meropenem	Υπερ		Θάνατος
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	N	Meropenem	Υπερ	Μη τροποποίηση	Θάνατος
<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	N	Meropenem/vancomycin	Υπερ	Αποκλιμάκωση	Επιβίωσε
<i>S. pseudoporcinous</i>	<i>Streptococcus spp</i>	N	Meropenem/daptomycin/	Υπερ	Αποκλιμάκωση	Θάνατος
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	N	Meropenem	Υπερ	Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
<i>S. pneumoniae</i>	-	O	Meropenem/vancomycin	Υπερ		Θάνατος
<i>A. baumannii*</i>	<i>A. baumannii</i>	N	Meropenem	Υπό	Αναβάθμιση	Θάνατος
-	<i>Streptococcus spp</i>	N	Piperacillin/tazobactam		Αποκλιμάκωση	Επιβίωσε
-	<i>E. cloacae</i>	N	Meropenem		Μη τροποποίηση	Επιβίωσε
-	<i>Streptococcus spp</i>	N	Piperacillin/tazobactam		Αποκλιμάκωση	Επιβίωσε

HCA: health care associated - σχετιζόμενη με υπηρεσίες υγείας, HA: hospital acquired - νοσοκομειακή, N: Ναι, O: Όχι K: Κατάλληλη, Υπό: Υποθεραπεία, Υπερ: Υπερθεραπεία . *πολυανθεκτικά παθογόνα

Πίνακας 7. Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση για τους παράγοντες που προβλέπουν την θνητότητα στις 7 ημέρες στο σύνολο (N=55) των ασθενών με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα (όλες οι παράμετροι καταγράφηκαν κατά τη διάγνωση)

	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.012 (0.959-1.067)	0.676		
Φύλο (♂)	1.329 (0.268-6.584)	0.728		
Νάτριο	0.958 (0.854-1.076)	0.471		
MELD score	1.103 (1.026-1.185)	0.008	1.126 (1.001-1.268)	0.049
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη	1.017 (1.005-1.030)	0.008	1.023 (1.005-1.041)	0.012
NWR (αίμα)	4.459 (1.288-15.442)	0.018		
NLR (αίμα)	1.084 (1.034-1.136)	0.001		
ΟΕΧΗΑ (Ναί)	160.043 (0.276-92740)	0.118		
Πολυμορφοπύρρηνα ασκίτη	1.000 (1.000-1.000)	0.031		
Εγκεφαλοπάθεια (Ναί)	47.277 (0.138-16164)	0.195		
Θετικές καλλιέργειες ασκίτη	7.114 (0.875-57.871)	0.067		
Θετικό bacterial DNA	2.777 (0.694-11.116)	0.149		
Υποθεραπεία σύμφωνα με τις καλλιέργειες (3/29)	1.870 (0.225-15.567)	0.563		
Αποτυχία θεραπείας σύμφωνα με τη μη ↓ πολυμορφοπύρρηνων ασκίτη	1.437 (0.240-8.605)	0.691		
Θετικές καλλιέργειες αίματος	5.459 (1.291-23.075)	0.021		

MELD: Model for End-Stage Liver Disease, NWR: neutrophils to white blood cells ratio – λόγος πολυμορφοπύρρηνα προς λευκά αιμοσφαίρια αίματος, NLR: neutrophils to lymphocytes ratio – λόγος πολυμορφοπύρρηνων προς λεμφοκύτταρα, ΟΕΧΗΑ: Οξεία – επί-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια

Πίνακας 8. Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση για τους παράγοντες που προβλέπουν την επιβίωση 30 ημερών σε ασθενείς με αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα που επιβίωσαν του οξέος επεισοδίου (N=47) (όλες οι παράμετροι καταγράφηκαν κατά τη διάγνωση)

	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
	HR (95% CI)	P	HR (95% CI)	P
Ηλικία (ανά 1 έτος)	1.006 (0.965-1.049)	0.767		
Φύλο (♂)	3.072 (0.687-13.738)	0.142		
MELD score	1.062 (1.011-1.116)	0.017		
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη	1.006 (0.996-1.016)	0.246		
NWR (αίμα)	3.211 (1.478-6.973)	0.003		
NLR (αίμα)	1.096 (1.029-1.168)	0.005	1.117 (1.026-1.216)	0.011*
			1.150 (1.050-1.260)	0.003**
ΟΕΧΗΑ (Ναί)	4.567 (1.580-13.196)	0.005		
Πολυμορφοπύρρηνα ασκίτη	1.000 (1.000-1.000)	0.006		
Εγκεφαλοπάθεια (Ναί)	6.287 (1.404-28.146)	0.016		
Θετική καλλιέργεια ασκίτη	1.636 (0.567-4.718)	0.362		
Θετικό bacterial DNA	4.027 (1.402-11.566)	0.010	4.142 (1.248-13.739)	0.020*
Θετικό bacterial DNA και καλλιέργεια ασκίτη	7.334 (2.506-21.464)	<0.001	8.522 (1.877-38.678)	0.006**
Υποθεραπεία σύμφωνα με τις καλλιέργειες (3/29)	1.186 (0.146-9.662)	0.873		
Αποτυχία θεραπείας σύμφωνα με τη μη ↓ πολυμορφοπύρρητων ασκίτη	1.095 (0.367-3.271)	0.870		
Θετικές καλλιέργειες αίματος	1.165 (0.152-8.908)	0.883		

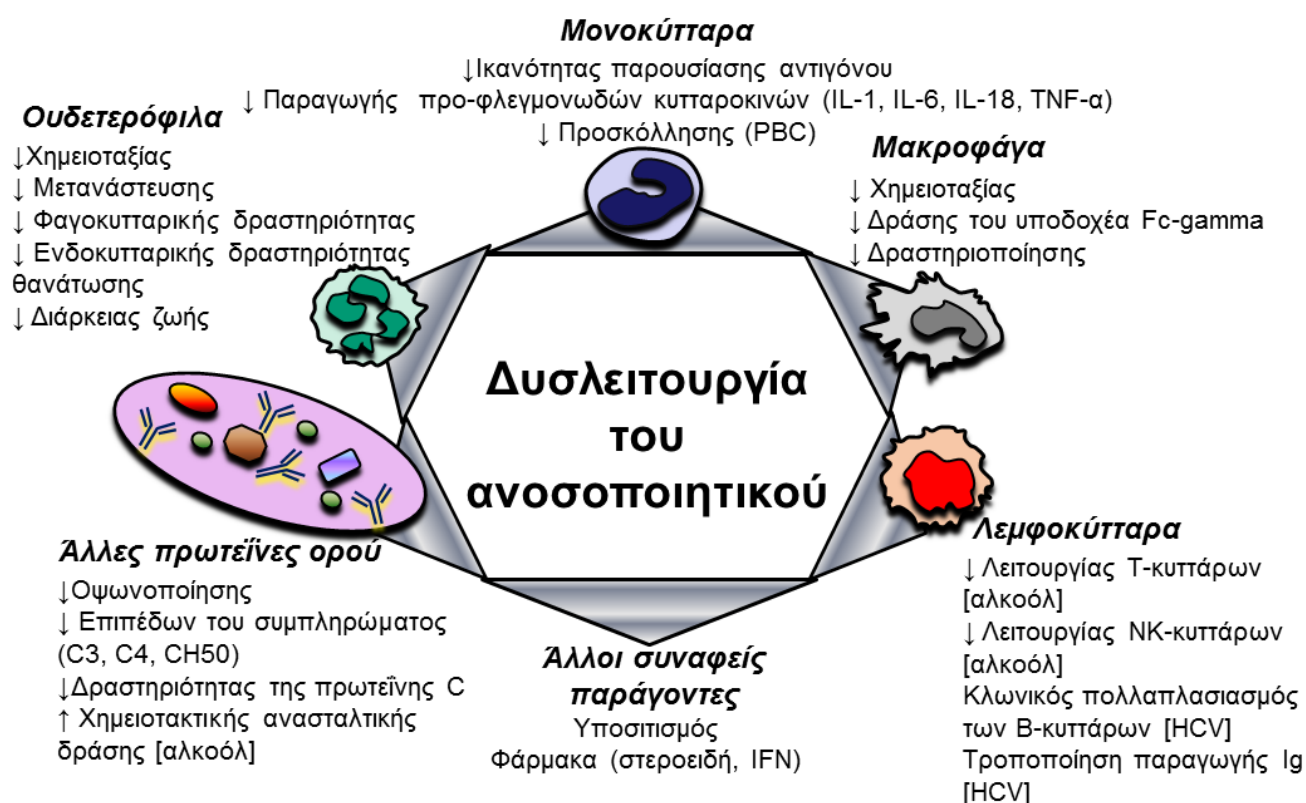
MELD: Model for End-Stage Liver Disease, NWR: neutrophils to white blood cells ratio – λόγος πολυμορφοπύρρηνα προς λευκά αιμοσφαίρια αίματος, NLR: neutrophils to lymphocytes ratio – λόγος πολυμορφοπύρρητων προς λεμφοκύτταρα, ΟΕΧΗΑ: Οξεία – επί-χρονίας ηπατική ανεπάρκεια

*Μοντέλο1: Η παράμετρος θετικό BactDNA μελετήθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση

**Μοντέλο 2: Η παράμετρος θετικό BactDNA και θετικές καλλιέργειες μελετήθηκε στην πολυπαραγοντική ανάλυση

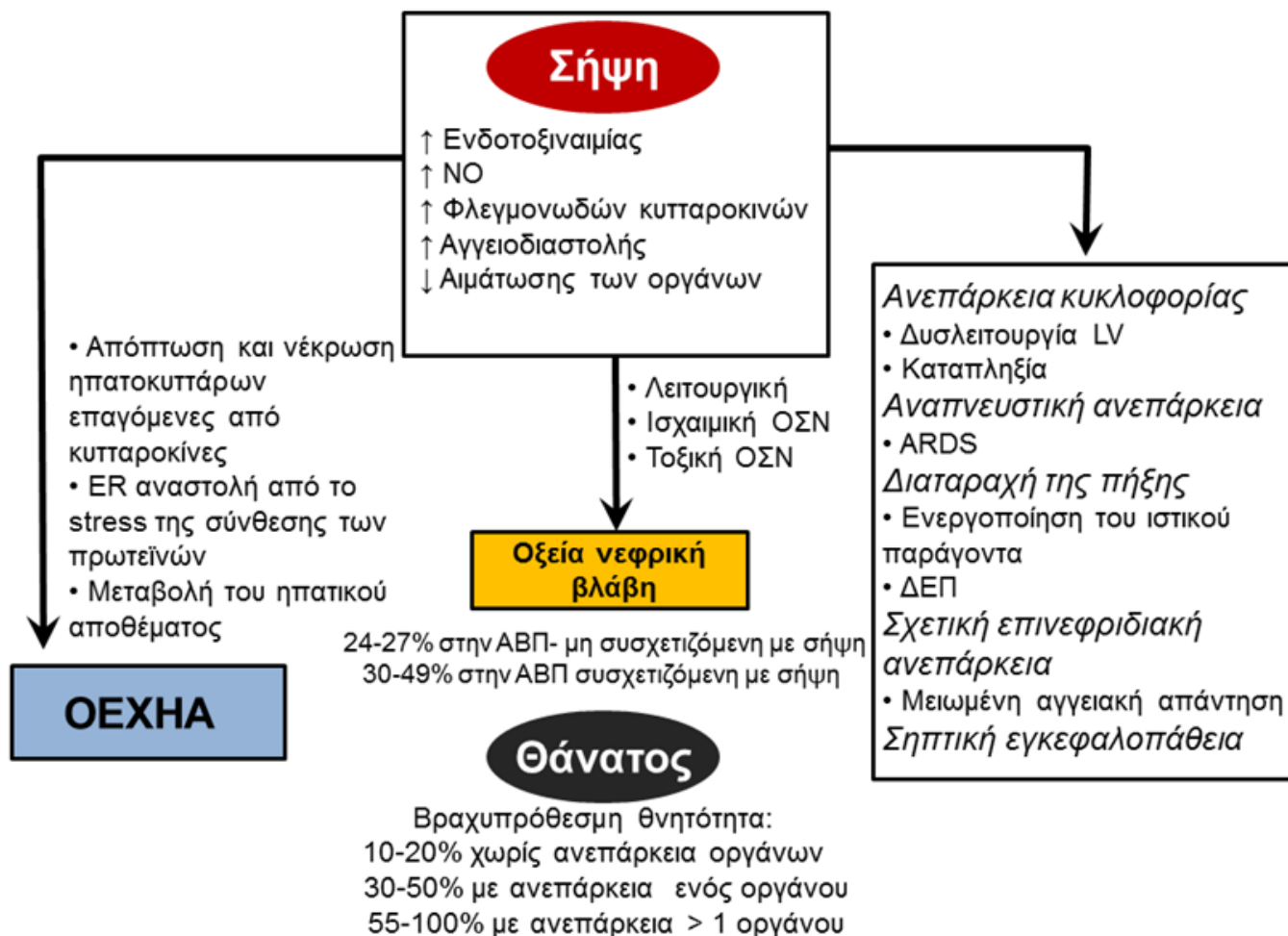
Εικόνα 1. Παράμετροι διαταραχής της φυσικής ανοσίας στην κίρρωση (Τροποποιημένη από Bonnel et al, [83]).

IL-1: interleukin 1 - ιντερλευκίνη 1, IL-6: interleukin 6 - ιντερλευκίνη 6, IL-18: interleukin 18 - ιντερλευκίνη 18, TNF-α: tumor necrosis factor α - παράγοντας νέκρωσης όγκου α, PBC: primary biliary cirrhosis - πρωτοπαθής χολική κίρρωση, HCV: Hepatitis C virus - Ιός της ηπατίτιδας C, IFN: interferon - ιντερφερόνη, Ig: immunoglobulin - ανοσοσφαιρίνη, NK: natural killers - φυσικοί φονείς



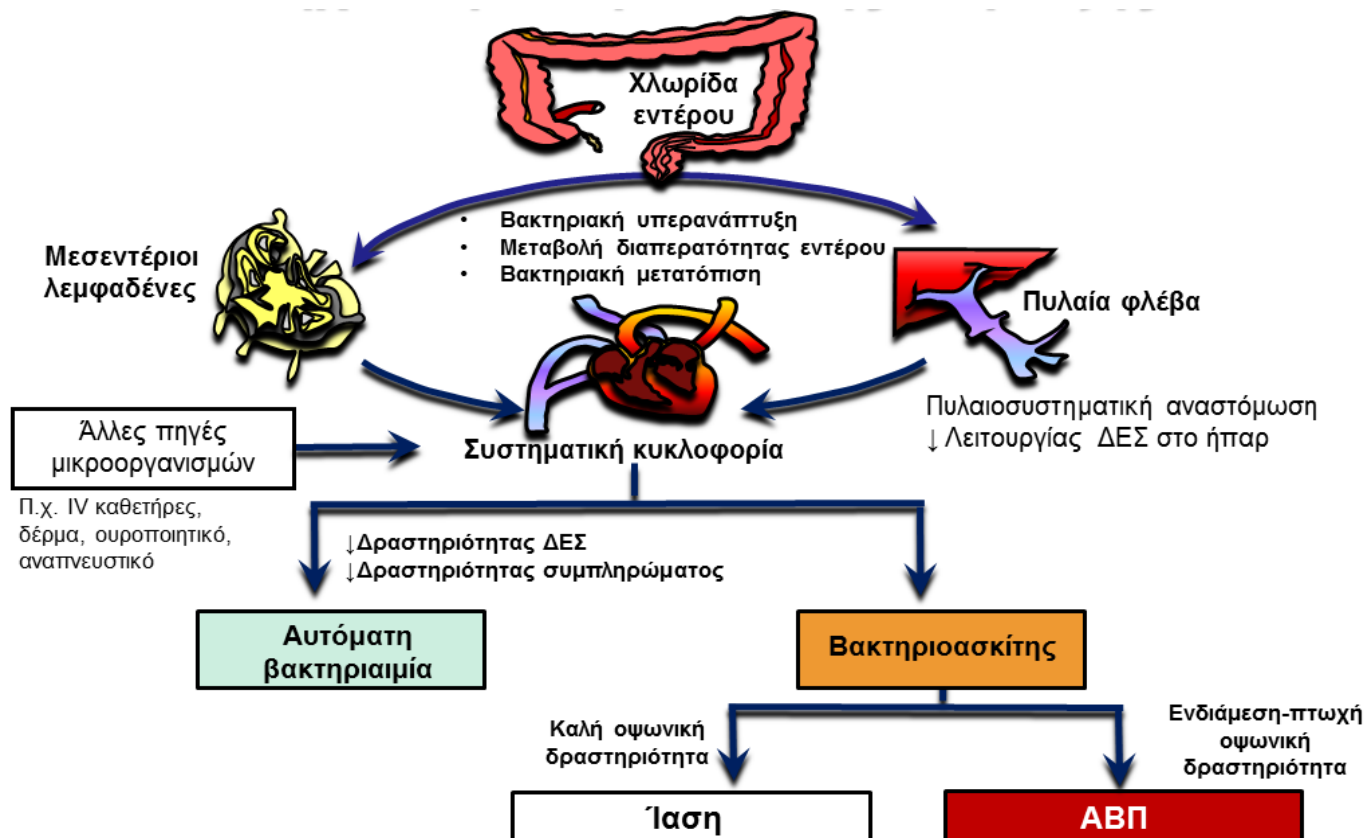
Εικόνα 2. Επιπτώσεις της σήψης στην κίρρωση (Τροποποιημένο από Bonnel et al [83]).

NO : nitric oxide – μονοξείδιο του αζώτου, *ER* : endoplasmic reticulum – ενδοπλασματικό δίκτυο, *ONB* : οξεία νεφρική βλάβη, *ΟΣΝ* : οξεία σωληναριακή νέκρωση, *ΟΕΧΗΑ* : οξεία επί χρονίας ηπατική ανεπάρκεια, *LV* : left ventricular : αριστερή κοιλία, *ARDS* : acute respiratory distress syndrome – σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, *ΔΕΠ* : διάχυτη ενδαγγειακή πήξη



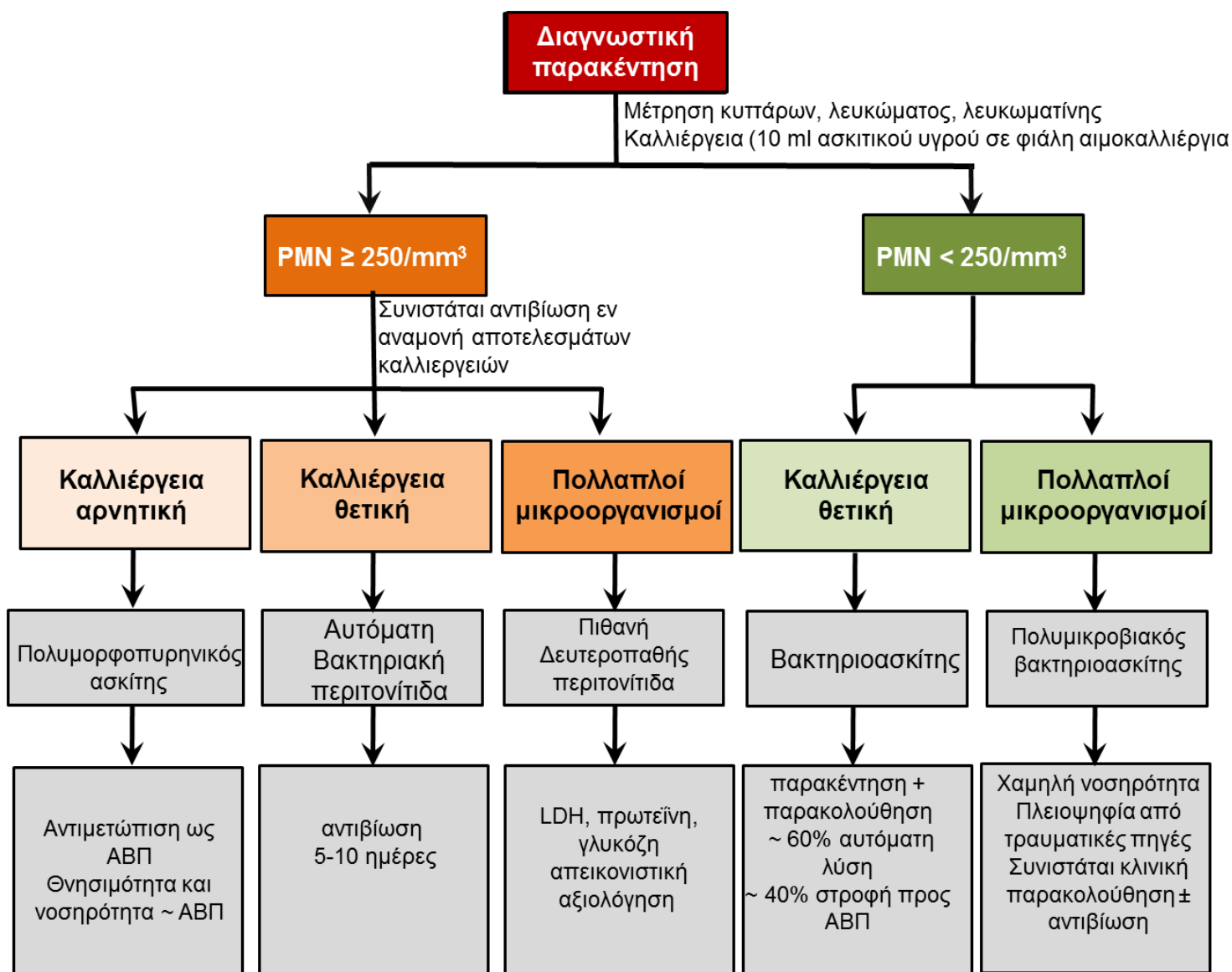
Εικόνα 3. Παθογενετικοί μηχανισμοί ανάπτυξης αυτόματης βακτηριακής περιτονίτιδας (Τροποποιημένη από Bonnel et al [83])

ΔΕΣ : Δικτυοενδοθηλιακό σύστημα, iv – intravenous - ενδοφλέβιος, ΑΒΠ : αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα

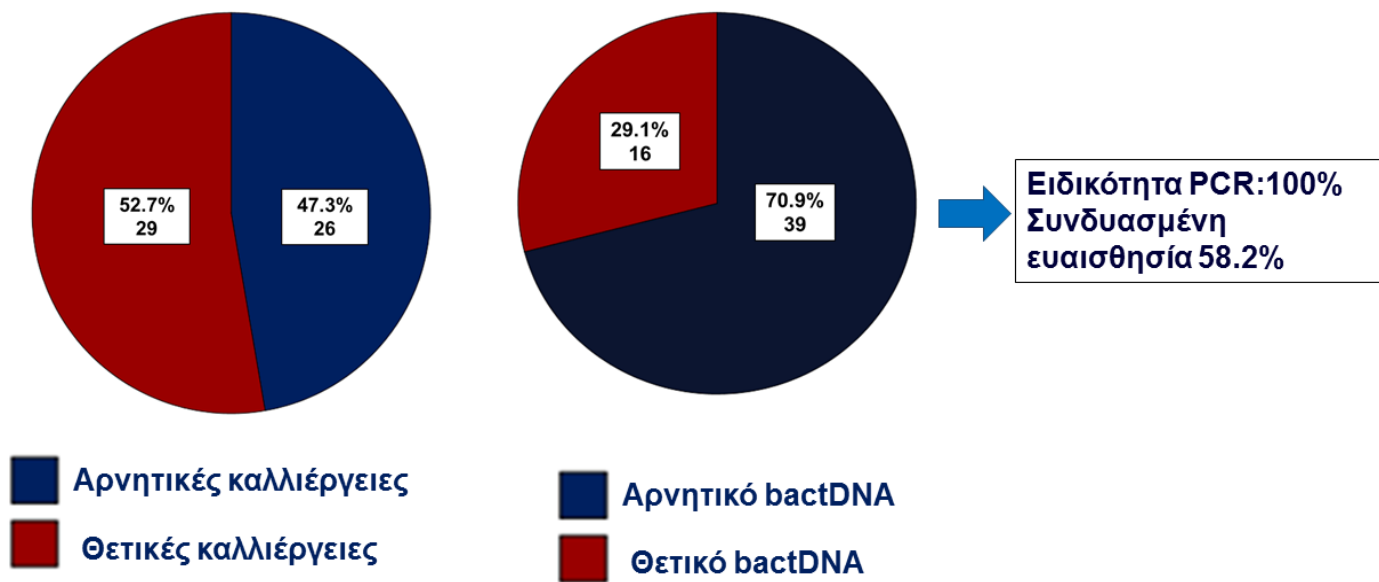


Εικόνα 4. Αλγόριθμος διαγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης της περιτονίτιδας (Τροποποιημένη από Bonnel et al [83]).

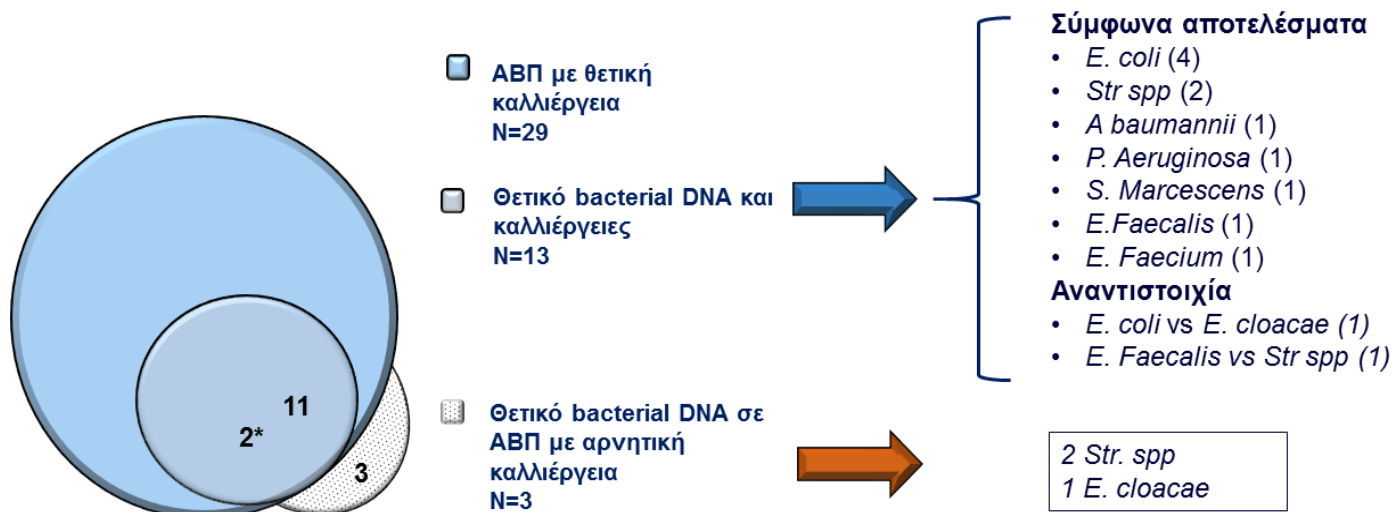
PMN : polymorphonuclear - πολυμορφοπύρρηνα, ABΠ : αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, LDH : lactate dehydrogenase - γαλακτική δεϋδρογενάση, ml : millilitre – χιλιοστόλιτρο



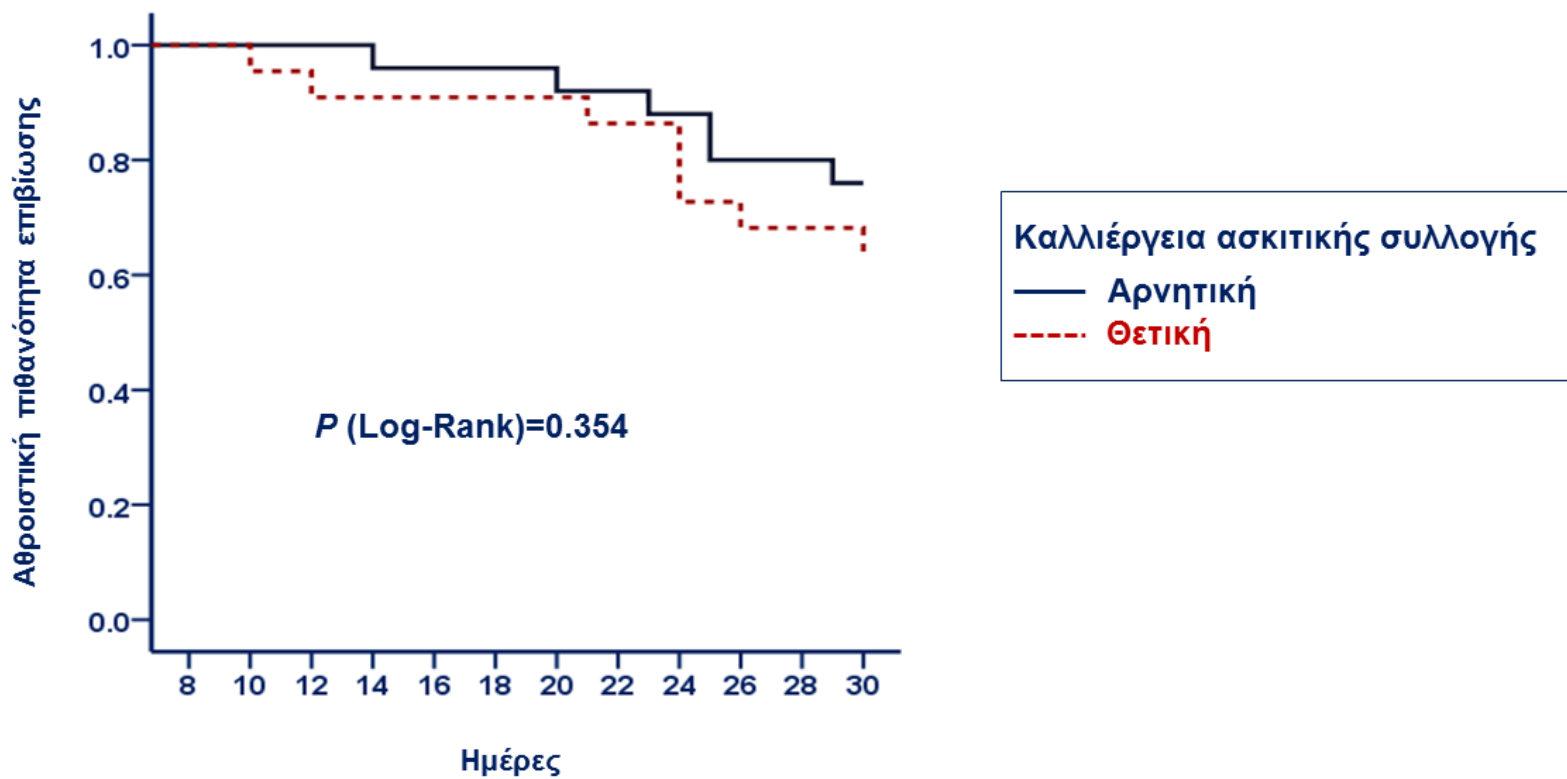
Εικόνα 5. Ευαισθησία και ειδικότητα των 2 μεθόδων στην αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα



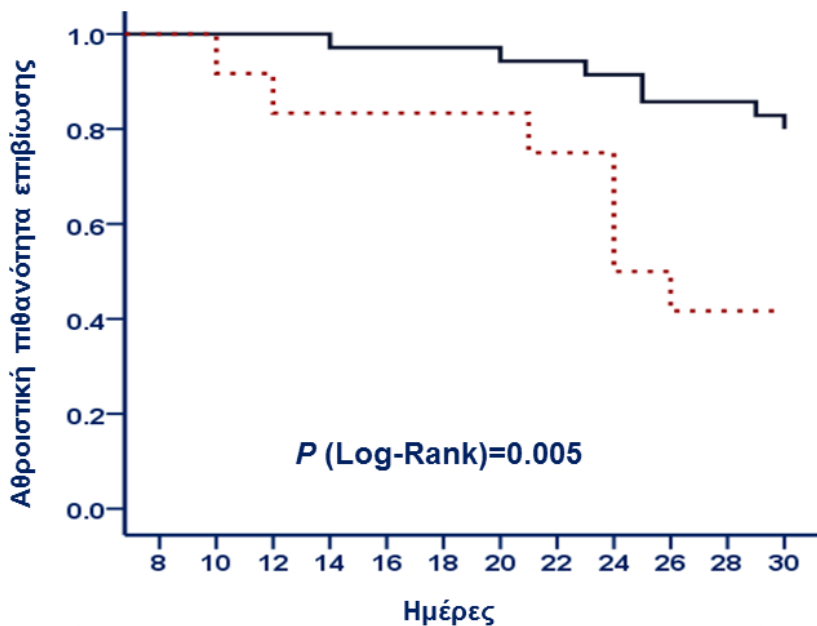
Εικόνα 6. Συμφωνίες και διαφορές μεταξύ των 2 μεθόδων



Εικόνα 7. Καμπύλη Kaplan – Meier για τις 30 ημέρες, για τους ασθενείς που επέζησαν του οξέος επεισοδίου (N=47), σύμφωνα με τις καλλιέργειες του ασκτικού υγρού



Εικόνα 8. Καμπύλη Kaplan – Meier για τις 30 ημέρες, για τους ασθενείς που επέζησαν του οξέος επεισοδίου (N=47), σύμφωνα με την παρουσία bactDNA



bacterial DNA ασκτικού υγρού
 — Αρνητικό (Ομάδα 0)
 - - - - - Θετικό (Ομάδα 1)

Bacterial DNA	Καλλιέργεια ασκίτη	Αριθμός	Ποσοστό
Αρνητικό	Αρνητική	22	62.9%
	Θετική	13	37.1%
Σύνολο		35	
Θετικό	Αρνητική	3	25%
	Θετική	9	75%
Σύνολο		12	

Αριθμός σε κίνδυνο

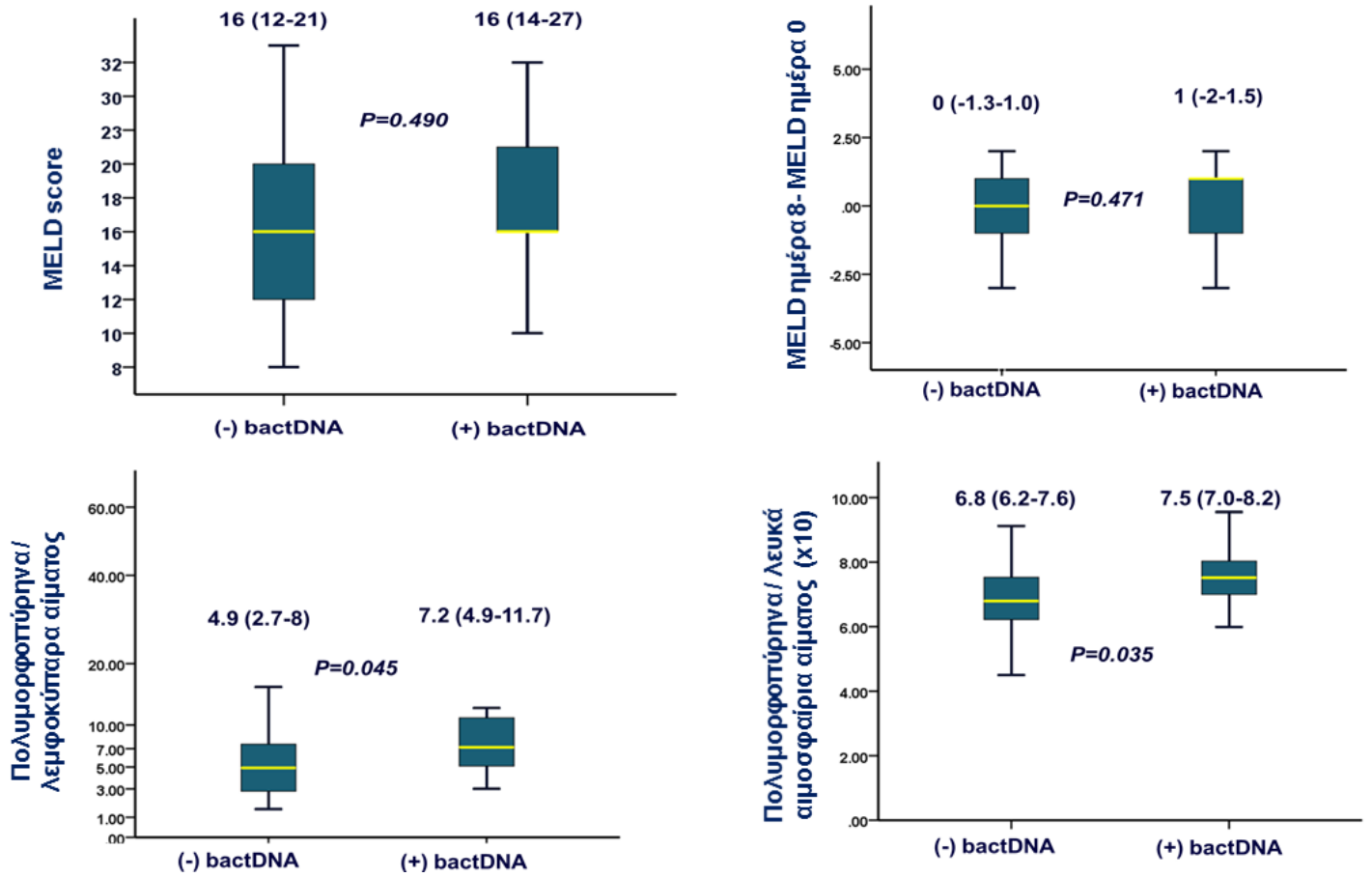
Ομάδα 0

35 35 35 34 34 34 33 33 32 30 30 28

Ομάδα 1

12 11 10 10 10 10 10 9 6 5 5 5

Εικόνα 9. Διαφορές, την ημέρα 8, στο MELD score και τη φλεγμονώδη αντίδραση, ασθενών με θετικό έναντι αρνητικού bacterial DNA.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aithal GP, Palaniyappan N, China L, Härmälä S, Macken L, Ryan JM, et al. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2021; 70:9-29.
2. Piano S, Fasolato S, Salinas F, Romano A, Tonon M, Morando F, et al. The empirical antibiotic treatment of nosocomial spontaneous bacterial peritonitis: results of a randomized, controlled clinical trial. *Hepatology* 2016; 63:1299-1309.
3. Fernández J, Acevedo J, Castro M, Garcia O, de Lope CR, Roca D, et al. Prevalence and risk factors of infections by multiresistant bacteria in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology* 2012; 55:1551-61.
4. Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M, et al. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology* 2010; 139:1246-56.
5. Arabi YM, Dara SI, Memish Z, Abdulmajeed AA, Tamim HM, Al-Shirawi N, et al. Antimicrobial therapeutic determinants of outcomes from septic shock among patients with cirrhosis. *Hepatology* 2012; 56:2305–15.
6. Gines P, Angeli P, Lenz K, Moller S, Moore K, Moreau R, et al. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 397–417.
7. Angeli P, Bernardi M, Villanueva C, Francoz C, Mookerjee RP, Trebicka J, et al. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2018; 69:406-60.
8. 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; 60:1310-24.
9. Fernández J, Prado V, Trebicka J, Amoros A, Gustot T, Wiest R, et al. Multidrug-resistant bacterial infections in patients with decompensated cirrhosis and with acute-on-chronic liver failure in Europe. *J Hepatol* 2019; 70:398-411.
10. Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, Piddock LJ, Planas R, Bernard B, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club. *J Hepatol* 2000; 32:142-53.
11. Castellote J, Xiol X, Verdaguer R, Ribes J, Guardiola J, Gimenez A, Casais L. Comparison of two ascitic fluid culture methods in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:1605-8.
12. Runyon BA, Canawati HN, Akriadiadis EA. Optimization of ascitic fluid culture technique. *Gastroenterology*. 1988; 95:1351-1355.
13. Tandon P, Garcia-Tsao G. Renal Dysfunction Is the Most Important Independent Predictor of Mortality in Cirrhotic Patients With Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 260-5.

14. Fitting C, Parlato M, Adib-Conquy M, Memain N, Philippart F, Misset B, et al. DNAemia detection by multiplex PCR and biomarkers for infection in systemic inflammatory response syndrome patients. *PLoS One* 2012; 7:e38916
15. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, Lee SH, Wang CH, Chou HC, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - a systemic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8:e62323.
16. Warhurst G, Dunn G, Chadwick P, Blackwood B, McAuley D, Perkins GD, et al. Rapid detection of health-care-associated bloodstream infection in critical care using multipathogen real-time polymerase chain reaction technology: a diagnostic accuracy study and systematic review. *Health Technol Assess* 2015; 19:1-142.
17. Tziolos N, Giamarellos-Bourboulis EJ. Contemporary approaches to the rapid molecular diagnosis of sepsis. *Expert Rev Mol Diagn* 2016; 16:1201-07.
18. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet* 2010; 375:224-30.
19. Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, Abrales JG, Navasa M, Pérez-Mateo M, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52:2044-52.
20. Zapater P, Francés R, González-Navajas JM, de la Hoz MA, Moreu R, Pascual S, et al. Serum and ascitic fluid bacterial DNA: a new independent prognostic factor in noninfected patients with cirrhosis. *Hepatology* 2008; 48:1924-1931.
21. El-Naggar MM, Khalil ESAM, El-Daker MAM, Salama MF. Bacterial DNA and its consequences in patients with cirrhosis and culture-negative, non-neutrocytic ascites. *J Med Microbiol* 2008; 57:1533-8.
22. Bruns T, Sachse S, Straube E, Assefa S, Herrmann A, Hagel S, et al. Identification of bacterial DNA in neutrocytic and non-neutrocytic cirrhotic ascites by means of a multiplex polymerase chain reaction. *Liver Int* 2009; 29:1206-14.
23. Bruns T, Reuken PA, Stengel S, Gerber L, Appenrodt B, Schade JH, et al. The prognostic significance of bacterial DNA in patients with decompensated cirrhosis and suspected infection. *Liver Int* 2016; 36:1133-42.
24. Malli E, Gatselis NK, Dalekos GN, Petinaki E. Combination of vial culture and broad-range PCR for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis: experience in a Greek tertiary care hospital. *New Microbes New Infect.* 2018; 28:1-5.
25. Feng Y, Chen CL, Chen TH, Liang YH, Chen HL, Lin CY, et al. Application of next-generation sequencing to study ascitic microbiome in cirrhotic patients with or without spontaneous bacterial peritonitis. *J Microbiol Immunol Infect* 2015; 48:504-9.
26. Krohn S, Böhm S, Engelmann C, Hartmann J, Brodzinski A, Chatzinotas A, et al. Application of qualitative and quantitative real-time PCR, direct sequencing, and terminal restriction

fragment length polymorphism analysis for detection and identification of polymicrobial 16S rRNA genes in ascites. *J Clin Microbiol* 2014; 52:1754-7.

27. Soriano G, Esparcia O, Montemayor M, Guarner-Argente C, Pericas R, Torras X, et al. Bacterial DNA in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011; 33:275-84.

28. Rogers GB, Russell LE, Preston PG, Marsh P, Collins JE, Saunders J, et al. Characterisation of bacteria in ascites--reporting the potential of culture-independent, molecular analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29:533-41.

29. Vieira SM, da Silveira TR, Matte U, Kieling CO, Ferreira CT, Taniguchi A, et al. Amplification of bacterial DNA does not distinguish patients with ascitic fluid infection from those colonized by bacteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007; 44:603-7.

30. Hardick J, Won H, Jeng K, Hsieh YH, Gaydos CA, Rothman RE, et al. Identification of bacterial pathogens in ascitic fluids from patients with suspected spontaneous bacterial peritonitis by use of broad-range PCR (16S PCR) coupled with high-resolution melt analysis. *J Clin Microbiol* 2012; 50:2428-32.

31. Sugihara T, Koda M, Maeda Y, Matono T, Nagahara T, Mandai M, et al. Rapid identification of bacterial species with bacterial DNA microarray in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Intern Med Tokyo Jpn*. 2009; 48:3-10.

32. Appenrodt B, Lehmann LE, Thyssen L, Gentemann M, Rabe C, Molitor E, et al. Is detection of bacterial DNA in ascitic fluid of clinical relevance? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22:1487-94.

33. Bruns T, Zimmermann Hw, Stallmach A. Risk factors and outcome of bacterial infections in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014; 20:2542-54.

34. Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28:26-42.

35. Fernández J, Acevedo J, Castro M, Garcia O, De Lope Cr, Roca D, et al. Prevalence and risk factors of infections by multiresistant bacteria in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology* 2012; 55:1551-6.

36. Merli M, Lucidi C, Giannelli V, Giusto M, Riggio O, Falcone M, et al. Cirrhotic patients are at risk for health care-associated bacterial infections. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8:979-85.

37. Botwin GJ, Morgan TR. Bacterial infections in cirrhosis. *Hepatol Int* 2014; 8:467-74.

38. Rosa H, Silvério AO, Perini RF, Arruda CB. Bacterial infection in cirrhotic patients and its relationship with alcohol. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1290-93.

39. Sargenti K, Prytz H, Nilsson E, Bertilsson S, Kalaitzakis E. Bacterial infections in alcoholic and nonalcoholic liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27:1080-86.

40. Louvet A, Wartel F, Castel H, Dharancy S, Hollebecque A, Canva-Delcambre V, et al. Infection in patients with severe alcoholic hepatitis treated with steroids: early response to therapy is the key factor. *Gastroenterology* 2009; 137:541-48.
41. Deschênes M, Villeneuve JP. Risk factors for the development of bacterial infections in hospitalized patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:2193-7.
42. Borzio M, Salerno F, Piantoni L, Cazzaniga M, Angeli P, Bissoli F, et al. Bacterial infection in patients with advanced cirrhosis: a multicentre prospective study. *Dig Liver Dis* 2001; 33:41-8.
43. Yoneyama K, Miyagishi K, Kiuchi Y, Shibata M, Mitamura K. Risk factors for infections in cirrhotic patients with and without hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2002; 37:1028-34.
44. Bunchorntavakul C, Chamroonkul N, Chavalitdhamrong D. Bacterial infections in cirrhosis: A critical review and practical guidance. *World J Hepatol* 2016; 8:307-21.
45. Cadranel JF, Denis J, Pauwels A, Barbare JC, Eugène C, Di Martino V, et al. Prevalence and risk factors of bacteriuria in cirrhotic patients: a prospective case-control multicenter study in 244 patients. *J Hepatol* 1999; 31:464-8.
46. Viasus D, Garcia-Vidal C, Castellote J, Adamuz J, Verdaguer R, Dorca J, et al. Community-acquired pneumonia in patients with liver cirrhosis: clinical features, outcomes, and usefulness of severity scores. *Medicine (Baltimore)* 2011; 90:110-18.
47. Liu BM, Chung KJ, Chen CH, Kung CT, KO SF, Liu PP, et al. Risk factors for the outcome of cirrhotic patients with soft tissue infections. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:312-16.
48. Acevedo J. Multiresistant bacterial infections in liver cirrhosis: Clinical impact and new empirical antibiotic treatment policies. *World J Hepatol* 2015; 7:916-21.
49. Bunchorntavakul C, Chavalitdhamrong D. Bacterial infections other than spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *World J Hepatol* 2012; 4:158-68.
50. Alexopoulou A, Vasilieva L, Agiasotelli D, Dourakis SP. Fungal infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2015; 63:1043-5.
51. Hassan EA, Abd El-Rehim AS, Hassany SM, Ahmed AO, Elsherbiny NM, Mohammed MH. Fungal infection in patients with end-stage liver disease: low frequency or low index of suspicion. *Int J Infect Dis* 2014; 23:69-74.
52. Dupeyron C, Mangeney N, Sedrati L, Campillo B, Fouet P, Leluan G. Rapid emergence of quinolone resistance in cirrhotic patients treated with norfloxacin to prevent spontaneous bacterial peritonitis. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:340-4.
53. Ortiz J, Vila MC, Soriano G, Miñana J, Gana J, Mirelis B, et al. Infections caused by *Escherichia coli* resistant to norfloxacin in hospitalized cirrhotic patients. *Hepatology* 1999; 29:1064-9.
54. Bartoletti M, Giannella M, Lewis Re, Viale P. Bloodstream infections in patients with liver cirrhosis. *Virulence* 2016; 7:309-19.

55. Thulstrup AM, Sørensen HT, Schönheyder HC, Møller JK, Tage-Jensen U. Population-based study of the risk and short-term prognosis for bacteremia in patients with liver cirrhosis. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1357-61.
56. Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology* 2002; 35:140-8.
57. Alexopoulou A, Papadopoulos N, Eliopoulos DG, Alexaki A, Tsiriga A, Toutouza M, et al. Increasing frequency of gram-positive cocci and gram-negative multidrug-resistant bacteria in spontaneous bacterial peritonitis. *Liver Int* 2013; 33:975-81.
58. Piroth L, Pechinot A, Minello A, Jaulhac B, Patry I, Hadou T, et al. Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance in ascitic fluid: a 2-year retrospective study. *Scand J Infect Dis* 2009; 41:847-51.
59. Ariza X, Castellote J, Lora-Tamayo J, Girbau A, Salord S, Rota R, et al. Risk factors for resistance to ceftriaxone and its impact on mortality in community, healthcare and nosocomial spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 2012; 56:825-32.
60. Tandon P, Delisle A, Topal Je, Garcia-Tsao G. High prevalence of antibiotic-resistant bacterial infections among patients with cirrhosis at a US liver center. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:1291-8.
61. Patel VC, Williams R. Antimicrobial resistance in chronic liver disease. *Hepatol Int* 2020; 14:24-34.
62. Piano S, Angeli P. Current Concepts on Bacterial and Fungal Infections in Cirrhosis. *Clin Liver Dis (Hoboken)* 2019; 14:87–91.
63. 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.
64. Merli M, Lucidi C, Di Gregorio V, Falcone M, Giannelli V, Lattanzi B, et al. The Spread of Multi Drug Resistant Infections Is Leading to an Increase in the Empirical Antibiotic Treatment Failure in Cirrhosis: A Prospective Survey. *PLoS One*. 2015;10: e0127448.
65. Fernández J, Bert F, Nicolas-Chanoine MH. The challenges of multi-drug-resistance in hepatology. *J Hepatol* 2016; 65:1043-54.
66. Fernández J, Acevedo J, Wiest R, Gustot T, Amoros A, Deulofeu C, et al. Bacterial and fungal infections in acute-on-chronic liver failure: prevalence, characteristics and impact on prognosis. *Gut* 2018; 67:1870-80.
67. Sedman PC, Macfie J, Sagar P, Mitchell CJ, May J, Mancey-Jones B, et al. The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology* 1994; 107:643-9.
68. MacFie J, O'Boyle C, Mitchell CJ, Buckley PM, Johnstone D, Sudworth P. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. *Gut* 1999; 45:223-8.

69. MacFie J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. *Br Med Bull* 2004; 71:1-11.
70. Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2014; 60:197-209.
71. Gómez-Hurtado I, Such J, Sanz Y, Francés R. Gut microbiota-related complications in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014; 20:15624–31.
72. Bellot P, Francés R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int* 2013; 33:31-9.
73. Casafont Morencos F, De Las Heras Castaño G, Martín Ramos L, López Arias Mj, Ledesma F, Pons Romero F. Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis. *Dig Dis Sci* 1996; 41:552-6.
74. Sánchez E, Casafont F, Guerra A, De Benito I, Pons-Romero F. Role of intestinal bacterial overgrowth and intestinal motility in bacterial translocation in experimental cirrhosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97:805-14.
75. Horvatits T, Drolz A, Roedl K, Rutter K, Ferlitsch A, Fauler G, et al. Serum bile acids as marker for acute decompensation and acute-on-chronic liver failure in patients with non-cholestatic cirrhosis. *Liver Int* 2017; 37:224-31.
76. Shindo K, Machida M, Miyakawa K, Fukumura M. A syndrome of cirrhosis, achlorhydria, small intestinal bacterial overgrowth, and fat malabsorption. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:2084-91.
77. Lo WK, Chan WW. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 1:483-90.
78. Assimakopoulos SF, Tsamandas AC, Tsiacoussis GI, Karatza E, Triantos C, Vagianos CE, et al. Altered intestinal tight junctions' expression in patients with liver cirrhosis: a pathogenetic mechanism of intestinal hyperpermeability. *Eur J Clin Invest* 2012; 42:439-46.
79. Macutkiewicz C, Carlson G, Clark E, Dobrindt U, Roberts I, Warhurst G. Characterisation of *Escherichia coli* strains involved in transcytosis across gut epithelial cells exposed to metabolic and inflammatory stress. *Microbes Infect.* 2008; 10:424-31.
80. Teltschik Z, Wiest R, Beisner J, Nuding S, Hofmann C, Schoelmerich J, et al. Intestinal bacterial translocation in rats with cirrhosis is related to compromised Paneth cell antimicrobial host defense. *Hepatology* 2012; 55:1154-63.
81. Yan AW, Fouts DE, Brandl J, Stärkel P, Torralba M, Schott E, et al. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease. *Hepatology* 2011; 53:96-105.
82. Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol* 2014; 61:1385-96.

83. Bonnel AR, Bunchorntavakul C, Reddy KR. Immune dysfunction and infections in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9:727-38.
84. Fiuza C, Salcedo M, Clemente G, Tellado JM. In Vivo Neutrophil Dysfunction in Cirrhotic Patients with Advanced Liver Disease. *J Infect Dis* 2000; 182: 526-33.
85. Trevisani F, Castelli E, Foschi Fg, Parazza M, Loggi E, Bertelli M, et al. Impaired tuftsin activity in cirrhosis: relationship with splenic function and clinical outcome. *Gut* 2002; 50:707–12.
86. Garfia C, García-Ruiz I, Solís-Herruzo JA. Deficient phospholipase C activity in blood polymorphonuclear neutrophils from patients with liver cirrhosis. *J Hepatol* 2004; 40:749-56.
87. Rajkovic IA, William SR. Abnormalities of neutrophil phagocytosis, intracellular killing, and metabolic activity in alcoholic cirrhosis and hepatitis. *Hepatology* 1986; 6:252-62.
88. Shawcross DI, Wright GA, Stadlbauer V, Hodges SJ, Davies NA, Wheeler-Jones C, et al. Ammonia impairs neutrophil phagocytic function in liver disease. *Hepatology* 2008; 48:1202-12.
89. Kusaba N, Kumashiro R, Ogata H, Sata M, Tanikawa K. In vitro study of neutrophil apoptosis in liver cirrhosis. *Intern Med* 1998; 37:11–7.
90. Ono Y, Watanabe T, Matsumoto K, Ito T, Kunii O, Goldstein E. Opsonophagocytic dysfunction in patients with liver cirrhosis and low responses to tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide in patients' blood. *J Infect Chemother* 2004; 10:200-7.
91. Runyon BA, Morrissey RL, Hoefs JC, Wyle FA. Opsonic activity of human ascitic fluid: a potentially important protective mechanism against spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1985; 5:634-7.
92. Ledesma Castaño F, Echevarria Vierna S, Lozano Polo JI, Oloriz Rivas R, Alvarez Moreno C, Pons Romero F. Interleukin-1 in alcoholic cirrhosis of the liver: the influence of nutrition. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46:527-33.
93. Szabo G. Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol* 1999; 34:830-41.
94. Gomez F, Ruiz P, Schreiber AD. Impaired function of macrophage Fc gamma receptors and bacterial infection in alcoholic cirrhosis. *N Engl J Med* 1994; 331:1122-8.
95. Dirchwolf M, Podhorzer A, Marino M, Shulman C, Cartier M, Zunino M, et al. Immune dysfunction in cirrhosis: Distinct cytokines phenotypes according to cirrhosis severity. *Cytokine* 2016; 77:14-25.
96. Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grünhage F, et al. Toll-like receptor (TLR) 2 promoter and intron 2 polymorphisms are associated with increased risk for spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 55:1010-6.
97. Bruns T, Peter J, Hagel S, Pfeifer R, Prinz P, Stallmach A. Homozygous carrier of the NOD2 1007fs frame-shift mutation presenting with refractory community-acquired spontaneous

bacterial peritonitis and developing fatal pulmonary mucormycosis: A case report. *Hepatol Res.* 2011; 41:1009-14.

98. Christou L, Pappas G, Falagas ME. Bacterial infection-related morbidity and mortality in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:1510-7.

99. Piano S, Singh V, Caraceni P, Maiwall R, Alessandria C, Fernandez J, et al. Epidemiology and Effects of Bacterial Infections in Patients With Cirrhosis Worldwide. *Gastroenterology* 2019; 156:1368-1380.e10.

100. Behroozian R, Bayazidchi M, Rasooli J. Systemic Inflammatory Response Syndrome and MELD Score in Hospital Outcome of Patients with Liver Cirrhosis. *Middle East J Dig Dis* 2012; 4:168–72.

101. Cazzaniga M, Dionigi E, Gobbo G, Fioretti A, Monti V, Salerno F. The systemic inflammatory response syndrome in cirrhotic patients: relationship with their in-hospital outcome. *J Hepatol* 2009; 51:475-82.

102. Abdel-Khalek EE, El-Fakhry A, Helaly M, Hamed M, Elbaz O. Systemic inflammatory response syndrome in patients with liver cirrhosis. *Arab J Gastroenterol* 2011; 12:173-7.

103. Michelena J, Altamirano J, Abralde Jg, Affò S, Morales-Ibanez O, Sancho-Bru P, et al. Systemic Inflammatory Response and Serum Lipopolysaccharide Levels Predict Multiple Organ Failure and Death in Alcoholic Hepatitis. *Hepatology* 2015; 62:762–72.

104. Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, Piddock LJ, Planas R, Bernard B, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club. *J Hepatol* 2000; 32:142-53.

105. Runyon BA, Hoefs JC. Ascitic fluid analysis in the differentiation of spontaneous bacterial peritonitis from gastrointestinal tract perforation into ascitic fluid. *Hepatology* 1984; 4:447-50.

106. Soriano G, Castellote J, Alvarez C, Girbau A, Gordillo J, Baliellas C, et al. Secondary bacterial peritonitis in cirrhosis: a retrospective study of clinical and analytical characteristics, diagnosis and management. *J Hepatol* 2010; 52:39-44.

107. Bhuvu M, Ganger D, Jensen D. Spontaneous bacterial peritonitis: an update on evaluation, management, and prevention. *Am J Med* 1994; 97:169-75.

108. Garcia-Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21:257-75.

109. Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, Rodés J. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology* 2002; 35:140-8.

110. Novovic S, Semb S, Olsen H, Moser C, Knudsen JD, Homann C. First-line treatment with cephalosporins in spontaneous bacterial peritonitis provides poor antibiotic coverage. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47:212-6.

111. Piroth L, Pechinot A, Di Martino V, Hansmann Y, Putot A, Patry I, et al. Evolving epidemiology and antimicrobial resistance in spontaneous bacterial peritonitis: a two-year observational study. *BMC Infect Dis* 2014; 14:287.
112. Friedrich K, Nüssle S, Rehlen T, Stremmel W, Mischnik A, Eisenbach C. Microbiology and resistance in first episodes of spontaneous bacterial peritonitis: implications for management and prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31:1191-5.
113. Alexopoulou A, Papadopoulos N, Eliopoulos Dg, Alexaki A, Tsiriga A, Toutouza M, et al. Increasing frequency of gram-positive cocci and gram-negative multidrug-resistant bacteria in spontaneous bacterial peritonitis. *Liver Int* 2013; 33:975-81.
114. Alexopoulou A, Vasilieva L, Agiasotelli D, Siranidi K, Pouriki S, Tsiriga A, et al. Extensively drug-resistant bacteria are an independent predictive factor of mortality in 130 patients with spontaneous bacterial peritonitis or spontaneous bacteremia. *World J Gastroenterol* 2016; 22:4049-56.
115. Dupeyron C, Campillo SB, Mangeney N, Richardet JP, Leluan G. Carriage of *Staphylococcus aureus* and of gram-negative bacilli resistant to third-generation cephalosporins in cirrhotic patients: a prospective assessment of hospital-acquired infections. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:427-32.
116. Campillo B, Richardet JP, Kheo T, Dupeyron C. Nosocomial spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in cirrhotic patients: impact of isolate type on prognosis and characteristics of infection. *Clin Infect Dis* 2002; 35:1-10.
117. Park YH, Lee HC, Song HG, Jung S, Ryu SH, Shin JW, et al. Recent increase in antibiotic-resistant microorganisms in patients with spontaneous bacterial peritonitis adversely affects the clinical outcome in Korea. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18:927-33.
118. Friedrich K, Nüssle S, Rehlen T, Stremmel W, Mischnik A, Eisenbach C. Microbiology and resistance in first episodes of spontaneous bacterial peritonitis: implications for management and prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31:1191-5.
119. Angeloni S, Leboffe C, Parente A, Venditti M, Giordano A, Manuela Merli, et al. Efficacy of current guidelines for the treatment of spontaneous bacterial peritonitis in the clinical practice. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2757–62.
120. Fiore M, Leone S. Spontaneous fungal peritonitis: Epidemiology, current evidence and future prospective. *World J Gastroenterol* 2016; 22:7742–7.
121. Bucsics T, Schwabl P, Mandorfer M, Peck-Radosavljevic M. Prognosis of cirrhotic patients with fungiascites and spontaneous fungal peritonitis (SFP). *J Hepatol* 2016; 64:1452-4.
122. França AV, De Souza JB, Silva CM, Soares EC. Long-term prognosis of cirrhosis after spontaneous bacterial peritonitis treated with ceftriaxone. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33:295-8.

123. Heo J, Seo YS, Yim HJ, Hahn T, Park SH, Ahn SH, et al. Clinical Features and Prognosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis in Korean Patients with Liver Cirrhosis: A Multicenter Retrospective Study. *Gut Liver* 2009; 3:197–204.
124. Melcarne L, Sopeña J, Martínez-Cerezo FJ, Vergara M, Miquel M, Sánchez-Delgado J, et al. Prognostic factors of liver cirrhosis mortality after a first episode of spontaneous bacterial peritonitis. A multicenter study. *Rev Esp Enferm Dig* 2018; 110:94-101.
125. Kim JJ, Tsukamoto MM, Mathur AK, Ghomri YM, Hou LA, Sheibani S, et al. Delayed paracentesis is associated with increased in-hospital mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109:1436-42.
126. Nobre SR, Cabral JE, Gomes JJ, Leitão MC. In-hospital mortality in spontaneous bacterial peritonitis: a new predictive model. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20:1176-81.
127. Tandon P, Kumar D, Seo YS, Chang HJ, Chaulk J, Carbonneau M, et al. The 22/11 risk prediction model: a validated model for predicting 30-day mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:1473-9.
128. Kamani L, Mumtaz K, Ahmed US, Ali AW, Jafri W. Outcomes in culture positive and culture negative ascitic fluid infection in patients with viral cirrhosis: cohort study. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 59.
129. al Amri SM, Allam AR, al Mofleh IA. Spontaneous bacterial peritonitis and culture negative neutrocytic ascites in patients with non-alcoholic liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 1994; 9:433-6.
130. Pelletier G, Salmon D, Ink O, Hannoun S, Attali P, Buffet C, Etienne JP. Culture-negative neutrocytic ascites: a less severe variant of spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 1990; 10:327-31.
131. Kim SU, Kim DY, Lee CK, Park JY, Kim SH, Kim HM, et al. Ascitic fluid infection in patients with hepatitis B virus-related liver cirrhosis: culture-negative neutrocytic ascites versus spontaneous bacterial peritonitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25:122-8.
132. Terg R, Levi D, Lopez P, Rafaelli C, Rojter S, Abecasis R, et al. Analysis of clinical course and prognosis of culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and neutrocytic ascites. Evidence of the same disease. *Dig Dis Sci* 1992; 37:1499-504.
133. Runyon BA, Hoefs JC. Culture-negative neutrocytic ascites: A variant of spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1984; 4:1209–11.
134. Na SH, Kim EJ, Nam EY, Song KH, Choe PG, Park WB, et al. Comparison of clinical characteristics and outcomes of spontaneous bacterial peritonitis and culture negative neutrocytic ascites. *Scand J Gastroenterol* 2017; 52:199-203.
135. Hwang SY, Yu SJ, Lee JH, Kim JS, Yoon JW, Kim YJ, et al. Spontaneous fungal peritonitis: a severe complication in patients with advanced liver cirrhosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33:259-64.

136. Gravito-Soares M, Gravito-Soares E, Lopes S, Ribeiro G, Figueiredo P. Spontaneous fungal peritonitis: a rare but severe complication of liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017; 29:1010-6.
137. Fernández J, Navasa M, Garcia-Pagan Jc, G-Abraldes J, Jiménez W, Bosch J, et al. Effect of intravenous albumin on systemic and hepatic hemodynamics and vasoactive neurohormonal systems in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol* 2004; 41:384-90.
138. Sort P, Navasa M, Arroyo V, Aldeguer X, Planas R, Ruiz-Del-Arbol L, et al. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999; 341:403-9.
139. Poca M, Concepción M, Casas M, Alvarez-Urturi C, Gordillo J, Hernández-Gea V, et al. Role of albumin treatment in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10:309-15.
140. Ginés P, Rimola A, Planas R, Vargas V, Marco F, Almela, et al. Norfloxacin prevents spontaneous bacterial peritonitis recurrence in cirrhosis: results of a double-blind, placebo-controlled trial. *Hepatology* 1990; 12:716-24.
141. Marciano S, Dirchwolf M, Diaz JM, Bermudez C, Gutierrez-Acevedo MN, Barcán LA, et al. Spontaneous bacterial peritonitis recurrence in patients with cirrhosis receiving secondary prophylaxis with norfloxacin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2019; 31:540-6.
142. Elfert A, Abo Ali L, Soliman S, Ibrahim S, Abd-Elsalam S. Randomized-controlled trial of rifaximin versus norfloxacin for secondary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016; 28:1450-4.
143. Faust N, Yamada A, Haider H, Komaki Y, Komaki F, Micic D, et al. Systemic review and network meta-analysis: Prophylactic antibiotic therapy for spontaneous bacterial peritonitis. *World J Hepatol* 2020; 12:239-52.
144. Alvarez RF, Mattos AA, Corrêa EB, Cotrim HP, Nascimento TV. Trimethoprim-sulfamethoxazole versus norfloxacin in the prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Arq Gastroenterol* 2005; 42:256-62.
145. Lontos S, Gow PJ, Vaughan RB, Angus PW. Norfloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole therapy have similar efficacy in prevention of spontaneous bacterial peritonitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23:252-55
146. Lontos S, Shelton E, Angus PW, Vaughan R, Roberts SK, Gordon A, Gow PJ. A randomized controlled study of trimethoprim-sulfamethoxazole versus norfloxacin for the prevention of infection in cirrhotic patients. *J Dig Dis* 2014; 15:260-7.
147. Llach J, Rimola A, Navasa M, Ginès P, Salmerón JM, Ginès A, 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; 16:724-7

148. Terg R, Fassio E, Guevara M, Cartier M, Longo C, Lucero R, et al. Ciprofloxacin in primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a randomized, placebo-controlled study. *J Hepatol* 2008; 48:774-9
149. Schwabl P, Bucsics T, Soucek K, Mandorfer M, Bota S, Blacky A, et al. Risk factors for development of spontaneous bacterial peritonitis and subsequent mortality in cirrhotic patients with ascites. *Liver Int* 2015; 35: 2121–8.
150. Guarner C, Solà R, Soriano G, Andreu M, Novella Mt, Vila Mc, et al. Risk of a first community-acquired spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotics with low ascitic fluid protein levels. *Gastroenterology* 1999; 117:414-9.
151. Fernández J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, et al. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology* 2007; 133:818-24.
152. Hanouneh MA, Hanouneh IA, Hashash JG, Law R, Esfeh JM, Lopez R, et al. The role of rifaximin in the primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46:709-15.
153. Assem M, Elsabaawy M, Abdelrashed M, Elemam S, Khodeer S, Hamed W, et al. Efficacy and safety of alternating norfloxacin and rifaximin as primary prophylaxis for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic ascites: a prospective randomized open-label comparative multicenter study. *Hepatol Int* 2016; 10:377-8.5
154. Janka T, Tornai T, Borbély B, Tornai D, Altorjay I, Papp M, Vitális Z. Deleterious effect of proton pump inhibitors on the disease course of cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2020; 32:257-64.
155. De Roza MA, Kai L, Kam JW, Chan YH, Kwek A, Ang TL, et al. Proton pump inhibitor use increases mortality and hepatic decompensation in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2019; 25:4933-44.
156. Min YW, Lim KS, Min BH, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, et al. Proton pump inhibitor use significantly increases the risk of spontaneous bacterial peritonitis in 1965 patients with cirrhosis and ascites: a propensity score matched cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40:695-704.
157. Senzolo M, Cholongitas E, Burra P, Leandro G, Thalheimer U, Patch D, et al. beta-Blockers protect against spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients: a meta-analysis. *Liver Int* 2009; 29:1189-93.
158. Mandorfer M, Bota S, Schwabl P, Bucsics T, Pfisterer N, Kruzik M, et al. Nonselective β blockers increase risk for hepatorenal syndrome and death in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 2014; 146:1680-90.e1.
159. Cichoz-Lach H, Celiński K, Słomka M, Kasztelan-Szczerbińska B. Pathophysiology of portal hypertension. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59:231-8.

160. Spengler EK, Dunkelberg J, Schey R. Alcoholic hepatitis: current management. *Dig Dis Sci* 2014; 59:2357-2366
161. Lagier J.-C, Hugon P, Khelaifia S, Fournier P-E, La Scola B, Raoult D. The Rebirth of Culture in Microbiology through the Example of Culturomics to Study Human Gut Microbiota. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28:237–64.
162. Franco-Duarte R, Černáková L, Kadam S, Kaushik KS, Salehi B, Bevilacqua A, et al. Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms—From Past to Present. *Microorganisms* 2019; 7:130.
163. Cartwright M, Rottman M, Shapiro NI, Seiler B, Lombardo P, Gamini N, et al. A broad-spectrum infection diagnostic that detects pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) in whole blood. *EBioMedicine* 2016; 9:217-27.
164. Schmitz RP, Keller PM, Baier M, Hagel S, Pletz MW, Brunkhorst FM. Quality of blood culture testing - a survey in intensive care units and microbiological laboratories across four European countries. *Crit Care* 2013; 17:248
165. Eggimann P, Bille J, Marchetti O. Diagnosis of invasive candidiasis in the ICU. *Ann Intensive Care* 2011; 1:37
166. Shizuma T, Fukuyama N. Investigation into bacteremia and spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis in Japan. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23:122-6.
167. Lee CC, Lee NY, Chuang MC, Chen PI, Chang CM, Ko WC. The impact of overcrowding on the bacterial contamination of blood cultures in the ED. *Am J Emerg Med* 2012; 30:839-45.
168. Adams NG. Diagnostic use of C-reactive protein in bacteraemic emergency department patients. *Emerg Med Australas* 2005; 17:371-375
169. Papp M, Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. *Liver Int* 2012; 32:603-11.
170. Lazzarotto C, Ronsoni MF, Fayad L, Nogueira CL, Bazzo ML, Narciso-Schiavon JL, et al. Acute phase proteins for the diagnosis of bacterial infection and prediction of mortality in acute complications of cirrhosis. *Ann Hepatol* 2013; 12:599-607.
171. Ximenes RO, Farias AQ, Scalabrini Neto A, Diniz MA, Kubota GT, Ivo MM, et al. Patients with cirrhosis in the ED: early predictors of infection and mortality. *Am J Emerg Med* 2016; 34:25-9.
172. Lee CC, Hong MY, Lee NY, Chen PL, Chang CM, Ko WC. Pitfalls in using serum C-reactive protein to predict bacteremia in febrile adults in the ED. *Am J Emerg Med* 2012; 30:562-9.
173. Riedel S, Melendez JH, An AT, Rosenbaum JE, Zenilman JM. Procalcitonin as a marker for the detection of bacteremia and sepsis in the emergency department. *Am J Clin Pathol* 2011; 135:182-9.

174. Connert S, Stremmel W, Elsing C. Procalcitonin is a valid marker of infection in decompensated cirrhosis. *Z Gastroenterol* 2003; 41:165-70.
175. Lin S, Huang Z, Wang M, Weng Z, Zeng D, Zhang Y, et al. Interleukin-6 as an early diagnostic marker for bacterial sepsis in patients with liver cirrhosis. *J Crit Care* 2015; 30:732-8.
176. Cid J, Aguinaco R, Sánchez R, García-Pardo G, Llorente A. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 2010; 60:313-9.
177. Romualdo LG, Torrella PE, González MV, Sánchez RJ, Holgado AH, Freire AO, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (soluble CD14 subtype) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome in the Emergency Department. *Clin Biochem* 2014; 47:505-8.
178. Peters RP, Van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM. New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:751-60.
179. Koutsounas I, Kaltsa G, Siakavellas SI, Bamias G. Markers of bacterial translocation in end-stage liver disease. *World J Hepatol* 2015; 7: 2264–73.
180. Chan CC, Hwang SJ, Lee FY, Wang SS, Chang FY, Li CP, et al. Prognostic value of plasma endotoxin levels in patients with cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:942-6.
181. Kaser A, Ludwiczek O, Waldenberger P, Jaschke W, Vogel W, Tilg H. Endotoxin and its binding proteins in chronic liver disease: the effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunting. *Liver* 2002; 22:380-7.
182. Fukui H, Brauner B, Bode JC, Bode C. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. *J Hepatol* 1991; 12:162-9.
183. Harte AL, da Silva NF, Creely SJ, McGee KC, Billyard T, Youssef-Elabd EM, et al. Elevated endotoxin levels in non-alcoholic fatty liver disease. *J Inflamm (Lond)* 2010; 7:15.
184. du Plessis J, Korf H, van Pelt J, Windmolders P, Vander Elst I, Verrijken A, et al. Pro-Inflammatory Cytokines but Not Endotoxin-Related Parameters Associate with Disease Severity in Patients with NAFLD. *PLoS One* 2016; 11:e0166048.
185. Stromberg L R, Mendez HM, Mukundan H. Detection Methods for Lipopolysaccharides: Past and Present. In: *Escherichia coli - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications* 2017. Διαθέσιμο από: <https://www.intechopen.com/books/-i-escherichia-coli-i-recent-advances-on-physiology-pathogenesis-and-biotechnological-applications/detection-methods-for-lipopolysaccharides-past-and-present>
186. Fukui H. Endotoxin and other microbial translocation markers in the blood: A clue to understand leaky gut syndrome. *Cell Mol Med* 2016, 2:3.
187. Lesińska M, Hartleb M, Gutkowski K, Nowakowska-Duława E. Procalcitonin and macrophage inflammatory protein-1 beta (MIP-1β) in serum and peritoneal fluid of patients with decompensated cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Adv Med Sci* 2014; 59:52-6.

188. Cai ZH, Fan CL, Zheng JF, Zhang X, Zhao WM, Li B, et al. Measurement of serum procalcitonin levels for the early diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in patients with decompensated liver cirrhosis. *BMC Infect Dis* 2015; 15:55.
189. Viallon A, Zeni F, Pouzet V, Lambert C, Quenet S, Aubert G, 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; 26:1082-8.
190. Homann C, Garred P, Graudal N, Hasselqvist P, Christiansen M, Fagerhol MK, et al. Plasma calprotectin: a new prognostic marker of survival in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21:979-85.
191. Homann C, Christensen E, Schlichting P, Philipsen EK, Graudal NA, Garred P. Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease. *Scand J Gastroenterol.* 2003; 38:415-20.
192. Homann C, Garred P, Graudal NA, Hasselqvist P, Christiansen M, Fagerhol MK, et al. Plasma calprotectin. A new prognostic marker of survival in alcoholic liver cirrhosis. *Ugeskr Laeger* 1996; 158:2980-4.
193. Gundling F, Schmidtler F, Hapfelmeier A, Schulte B, Schmidt T, Pehl C, et al. Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int* 2011; 31:1406-15.
194. 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; 19:2028-36.
195. Abdel-Razik A, Mousa N, Elhammady D, Elhelaly R, Elzehery R, Elbaz S, et al. Ascitic Fluid Calprotectin and Serum Procalcitonin as Accurate Diagnostic Markers for Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gut Liver* 2016; 10:624-31.
196. Fernandes SR, Santos P, Fatela N, Baldaia C, Tato Marinho R, Proença H, et al. Ascitic Calprotectin is a Novel and Accurate Marker for Spontaneous Bacterial Peritonitis. *J Clin Lab Anal* 2016; 30:1139-1145.
197. Alexopoulou A, Agiasotelli D, Vasilieva LE, Dourakis SP. Bacterial translocation markers in liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol* 2017; 35: 486–97.
198. Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology* 2003; 37:208-17.
199. Albillos A, de-la-Hera A, Alvarez-Mon M. Serum lipopolysaccharide-binding protein prediction of severe bacterial infection in cirrhotic patients with ascites. *Lancet* 2004; 363(9421):1608-10.
200. Agiasotelli D, Alexopoulou A, Vasilieva L, Hadziyannis E, Goukos D, Daikos GL, et al. High serum lipopolysaccharide binding protein is associated with increased mortality in patients with decompensated cirrhosis. *Liver Int* 2017; 37:576-82.

201. Tuomisto S, Pessi T, Collin P, Vuento R, Aittoniemi J, Karhunen PJ. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhotics. *BMC Gastroenterol* 2014; 14:40.
202. Sandler NG, Koh C, Roque A, Eccleston JL, Siegel RB, Demino M, et al. Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. *Gastroenterology* 2011; 141:1220-30, 1230.e1-3.
203. Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, et al. Soluble CD14 levels reflect liver inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *PLoS One* 2013; 8:e65211.
204. French AL, Evans CT, Agniel DM, Cohen MH, Peters M, Landay AL, et al. Microbial translocation and liver disease progression in women coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2013; 208:679-89.
205. Papp M, Sipeki N, Vitalis Z, Tornai T, Altorjay I, Tornai I, et al. High prevalence of IgA class anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) is associated with increased risk of bacterial infection in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 2013; 59:457-66.
206. Kaltsa G, Bamias G, Siakavellas SI, Goukos D, Karagiannakis D, Zampeli E, et al. Systemic levels of human β -defensin 1 are elevated in patients with cirrhosis. *Ann Gastroenterol.* 2016; 29: 63–70.
207. Mani I, Alexopoulou A, Vasilieva L, Hadziyannis E, Agiasotelli D, Bei M, et al. Human beta-defensin-1 is a highly predictive marker of mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. *Liver Int* 2019; 39:299-306.
208. Singh J. A critical review on PCR, its types and applications. *International Journal of Advanced research in biological sciences* 2014; 1:65-80.
209. Dark PM, Dean P, Warhurst G. Bench-to-bedside review: the promise of rapid infection diagnosis during sepsis using polymerase chain reaction-based pathogen detection. *Crit Care* 2009; 13:217.
210. Gachon C, Mingam A, Charrier B. Real-time PCR: what relevance to plant studies? *J Exp Bot* 2004; 55:1445-54.
211. Monstein HJ, Kihlström E, Tiveljung A. Detection and identification of bacteria using in-house broad range 16S rDNA PCR amplification and genus-specific DNA hybridization probes, located within variable regions of 16S rRNA genes. *APMIS* 1996; 104:451-8.
212. Haff LA. Improved quantitative PCR using nested primers. *PCR Methods Appl.* 1994; 3:332-7.
213. Wacker MJ, Godard MP. Analysis of One-Step and Two-Step Real-Time RT-PCR Using SuperScript III. *J Biomol Tech* 2005; 16:266-71.

214. Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, Gilbert W, Rogers J, Schloss JA et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 2017; 550:345–353
215. Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* 2016; 107:1-8.
216. Orita M, Iwahana H, Kanazawa H, Hayashi K, Sekiya T. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:2766-70.
217. Velegraki A, Kambouris ME, Skiniotis G, Savala M, Mitroussia-Ziouva A, Legakis NJ. Identification of medically significant fungal genera by polymerase chain reaction followed by restriction enzyme analysis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 23:303-12.
218. Κυριαζής ΙΔ, Καμπούρης ΜΕ, Πουλάς Κ, Πατρινός ΓΠ. Μοριακές τεχνικές για την ανίχνευση και το χαρακτηρισμό μικροοργανισμών. *Archives of Hellenic medicine* 2014; 31:23-40.
219. McLaughlin RW, Vali H, Lau PC, Palfree RG, De Ciccio A, Sirois M, et al. Are there naturally occurring pleomorphic bacteria in the blood of healthy humans? *J Clin Microbiol.* 2002; 40:4771-5.
220. Nikkari S, McLaughlin IJ, Bi W, Dodge DE, Relman DA. Does blood of healthy subjects contain bacterial ribosomal DNA? *J Clin Microbiol* 200; 39:1956-9.
221. Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol Rev* 2015; 39: 567-91.
222. Amar J, Chabo C, Waget A, Klopp P, Vachoux C, Bermudez-Humaran LG, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med* 2011; 3:559–72.
223. Amar J, Lange C, Payros G, Garret C, Chabo C, Lantieri O, et al. Blood microbiota dysbiosis is associated with the onset of cardiovascular events in a large general population: the D.E.S.I.R. study. *PLoS One* 2013; 8:e54461.
224. Qian Y, Yang X, Xu S, Wu C, Qin N, Chen SD, et al. Detection of Microbial 16S rRNA Gene in the Blood of Patients With Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci* 2018; 10:156.
225. Tziolos N, Giamarellos-Bourboulis EJ. Contemporary approaches to the rapid molecular diagnosis of sepsis. *Expert Rev Mol Diagn* 2016; 16:1201-07.
226. Fitting C, Parlato M, Adib-Conquy M, Memain N, Philippart F, Misset B, et al. DNAemia detection by multiplex PCR and biomarkers for infection in systemic inflammatory response syndrome patients. *PLoS One* 2012; 7:e38916.
227. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, Lee SH, Wang CH, Chou HC, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis - a systemic review and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8:e62323.

228. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, et al. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet* 2010; 375:224-30.
229. Warhurst G, Dunn G, Chadwick P, Blackwood B, McAuley D, Perkins GD, et al. Rapid detection of health-care-associated bloodstream infection in critical care using multipathogen real-time polymerase chain reaction technology: a diagnostic accuracy study and systematic review. *Health Technol Assess* 2015; 19:1-142.
230. Varani S, Stanzani M, Paolucci M, Melchionda F, Castellani G, Nardi L, et al. Diagnosis of bloodstream infections in immunocompromised patients by real-time PCR. *J Infect* 2009; 58:346-51.
231. Grumaz S, Grumaz C, Vainshtein Y, Stevens P, Glanz K, Decker SO, et al. Enhanced Performance of Next-Generation Sequencing Diagnostics Compared With Standard of Care Microbiological Diagnostics in Patients Suffering From Septic Shock. *Crit Care Med* 2019; 47:e394-e402.
232. Watanabe N, Kryukov K, Nakagawa S, Takeuchi JS, Takeshita M, Kirimura Y, et al. Detection of pathogenic bacteria in the blood from sepsis patients using 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis. *PLoS One* 2018; 13:e0202049.
233. Long Y, Zhang Y, Gong Y, Sun R, Su L, Lin X, et al. Diagnosis of Sepsis with Cell-free DNA by Next-Generation Sequencing Technology in ICU Patients. *Arch Med Res* 2016; 47:365-71.
234. Brenner T, Decker SO, Grumaz S, Stevens P, Bruckner T, Schmoch T, et al. Next-generation sequencing diagnostics of bacteremia in sepsis (Next GeneSiS-Trial): Study protocol of a prospective, observational, noninterventional, multicenter, clinical trial. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97:e9868.
235. Francés R, Zapater P, González-Navajas JM, Muñoz C, Caño R, Moreu R, et al. Bacterial DNA in patients with cirrhosis and noninfected ascites mimics the soluble immune response established in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 2008; 47:978-85.
236. Such J, Francés R, Muñoz C, Zapater P, Casellas JA, Cifuentes A, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. *Hepatology* 2002; 36:135-41.
237. Sersté T, Bert F, Leflon-Guibout V, Chauvet C, Marcon E, Asselah T, et al. Detection of bacterial DNA in serum and ascitic fluid of asymptomatic outpatients with cirrhosis and non-neutrocytic ascites. *Liver Int* 2011; 31:494-8.
238. Rogers GB, van der Gast CJ, Bruce KD, Marsh P, Collins JE, Sutton J, et al. Ascitic microbiota composition is correlated with clinical severity in cirrhosis with portal hypertension. *PLoS One* 2013; 8:e74884.

239. Rodríguez-Laiz GP, Zapater P, Melgar P, Alcázar C, Franco M, Giménez P, et al. Bacterial DNA translocation contributes to systemic inflammation and to minor changes in the clinical outcome of liver transplantation. *Sci Rep.* 2019; 9:835.
240. Caro E, Francés R, Zapater P, Pascual S, Bellot P, Such J. Grade of soluble inflammatory response is mainly affected by circulating bacterial DNA concentrations in cirrhosis. *Liver Int* 2016; 36:1473-80.
241. Francés R, Muñoz C, Zapater P, Uceda F, Gascón I, Pascual S, et al. Bacterial DNA activates cell mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. *Gut* 2004; 53:860-4.
242. Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, Abralde JG, Navasa M, Pérez-Mateo M, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2010; 52:2044-52.
243. Runyon BA, Canawati HN, Akriviadis EA. Optimization of ascitic fluid culture technique. *Gastroenterology* 1988; 95:1351-5.
244. Huggett JF, Novak T, Garson JA, Green C, Morris-Jones SD, Miller RF, et al. Differential susceptibility of PCR reactions to inhibitors: an important and unrecognised phenomenon. *BMC Res Notes* 2008; 1:70.
245. Yang J, Qi XM, Wu YG. The Application Analysis of Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction Assays for Detection of Pathogenic Bacterium in Peritoneal Dialysis-Associated Peritonitis. *Blood Purif* 2019; 47:337–45.
246. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med* 2002; 137:791–7.
247. Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, et al. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis *Gastroenterology* 2013; 144:1426-37.
248. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 30th edition. CLSI web site, <<https://www.clsi.org>>. Accessed 05 Jan 2021.
249. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18:268-81.
250. Chang SS, Hsieh WH, Liu TS, Lee SH, Wang CH, Chou HC, et al. Multiplex PCR System for Rapid Detection of Pathogens in Patients with Presumed Sepsis-A Systemic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2013; 8:e62323.
251. Opota O, Jatón K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood *Clin Microbiol Infect* 2015; 21:323-31.

252. Lucignano B, Ranno S, Liesenfeld O, Pizzorno B, Putignani L, Bernaschi P, et al. Multiplex PCR allows rapid and accurate diagnosis of bloodstream infections in newborns and children with suspected sepsis. *J Clin Microbiol* 2011; 49:2252-58.
253. Regueiro BJ, Varela-Ledo E, Martinez-Lamas L, Rodriguez-Calviño J, Aguilera A, Santos A, et al. Automated extraction improves multiplex molecular detection of infection in septic patients. *PLoS One* 2010; 5:e13387.
254. Lodes U, Bohmeier B, Lippert H, König B, Meyer F. PCR-based rapid sepsis diagnosis effectively guides clinical treatment in patients with new onset of SIRS. *Langenbecks Arch Surg* 2012; 397:447-55.
255. Francés R, Benlloch S, Zapater P, González JM, Lozano B, Muñoz C, et al. A sequential study of serum bacterial DNA in patients with advanced cirrhosis and ascites. *Hepatology* 2004; 39:484-91.