

31

ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของการ ติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็ง (biomarkers for diagnosis of bacterial infection in cirrhosis)

ศลิษา เวทย์นฤมณ

เกศรินทร์ กานะภิรมย์

บทนำ

การติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็งพบได้มากถึงร้อยละ 25-35 ในผู้ป่วยโรคตับแข็งที่เข้ารับการ
รักษาในโรงพยาบาลทั้งหมด และพบได้บ่อยกว่าในประชากรทั่วไปถึง 6 เท่า⁽¹⁾ โดย spontaneous bacterial
peritonitis (SBP) และ spontaneous blood stream infection เป็นสองโรคติดเชื้อหลักที่พบในผู้ป่วยโรค
ตับแข็ง การติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะเลือดออกในทางเดินอาหาร hepatic
encephalopathy ไตวายเฉียบพลัน และเกิดภาวะ acute-on-chronic liver failure (ACLF) หรือ acute
decompensation (AD) และมีการเสียชีวิตตามมาได้⁽²⁾ ดังนั้นการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วย
โรคตับแข็งได้อย่างรวดเร็วและให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะที่ครอบคลุมจึงเป็นสิ่งสำคัญ ในปัจจุบันจึง
มีการศึกษาดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับกลไกการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็งเพื่อช่วย
ให้การวินิจฉัยการติดเชื้ออย่างรวดเร็วเกิดขึ้นมากมาย

กลไกการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็ง

Genetic predisposition to bacterial infection

เชื้อแบคทีเรียหรือองค์ประกอบของเชื้อ เช่น endotoxin จะจับกับตัวรับสัญญาณบริเวณผิวเซลล์
ภูมิคุ้มกัน ได้แก่ Toll-like receptors (TLR) ประกอบไปด้วย TLR1, TLR2, และ TLR4 และตัวรับสัญญาณ
ในเซลล์ได้แก่ Nod-like receptors (NLR) ประกอบไปด้วย nucleotide-binding oligomerization domain
containing 2 (NOD2) และ NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) โดย TLR1

และ TLR2 จะจับกับ tri-acylated lipoprotein จากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ TLR4 จะจับกับ lipopolysaccharides (LPS) บนผิวเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ และ NOD2 จะจับกับ muramyl dipeptide บนผิวเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ เมื่อมีการจับกับระหว่างเชื้อแบคทีเรียและตัวรับสัญญาณนี้จะเกิดการกระตุ้น Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) และมีการหลั่ง antimicrobial peptides ตามมา⁽³⁾

ในผู้ป่วยโรคตับแข็งที่มี NOD2 variants จะมีโอกาสเกิด SBP และเสียชีวิตมากกว่ากลุ่มที่มี NOD2 ปกติ และในกลุ่มผู้ป่วยที่มีผลเพาะเชื้อเป็นบวก พบว่าผู้ป่วยที่มี NOD2 variants จะเกิด variceal bleeding และมะเร็งตับมากกว่ากลุ่มที่มี NOD2 ปกติ⁽⁴⁾ อีกทั้งยังพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มีทั้ง NOD2 และ TLR2 variants จะมีโอกาสเกิด SBP มากขึ้น (OR 11) และสัมพันธ์กับการเกิด bacterial translocation ที่เพิ่มขึ้น⁽⁵⁾

Bacterial overgrowth

ในภาวะปกติ ความสมดุลระหว่างจุลินทรีย์ในลำไส้ (gut microbiota) และแบคทีเรียก่อโรคจะยับยั้งการติดเชื้อก่อโรค หากมีการเปลี่ยนแปลงของสมดุลนี้จะทำให้เกิดภาวะ intestinal bacterial overgrowth หรือภาวะ dysbiosis ได้⁽⁶⁾

Intestinal bacterial overgrowth เป็นภาวะที่พบบ่อยในผู้ป่วยโรคตับแข็งเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร มีการลดลงของการเคลื่อนตัวของลำไส้ และการลดลงของการหลั่งน้ำดี รวมถึงมีการหลั่ง antimicrobial peptide ที่ลดลง โดยภาวะนี้มักเกิดขึ้นในลำไส้เล็กเป็นหลัก⁽⁷⁾ และผู้ป่วยโรคตับแข็งที่มี intestinal bacterial overgrowth มักเกิด SBP มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีภาวะนี้⁽⁸⁾

Increased intestinal permeability

ในภาวะปกติ tight junction ระหว่างเซลล์เยื่อบุเป็นส่วนสำคัญในการป้องกันไม่ให้เกิดการเคลื่อนย้าย bacterial products ระหว่าง intestinal lumen และระบบไหลเวียนโลหิต ในผู้ป่วยโรคตับแข็งจะมีการหลั่ง tumor necrosis factor-α (TNF-α) เพิ่มขึ้นใน gut-associated lymphatic tissue ส่งผลให้ tight junction คลายตัวลงและมีการเคลื่อนย้ายตัวของเชื้อแบคทีเรียผ่านเซลล์ (transcytosis) เพิ่มขึ้น มีการทำงานของ Paneth cell ลดลง นอกจากนี้ยังมีการหลั่งสารที่ยับยั้งการสัมผัสโดยตรงระหว่างเซลล์เยื่อบุและเชื้อแบคทีเรียคือ IgA biliary lipid และ antimicrobial peptides ลดลง⁽⁹⁾ ส่งผลให้เกิด bacterial translocation ตามมาและเกิดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายอย่างต่อเนื่อง เกิดเป็นภาวะ immune exhaustion และ immune paralysis (รูปที่ 1) นอกจากนี้ ภาวะ portal hypertension ในผู้ป่วยโรคตับแข็ง ยังทำให้ microcirculation ในเยื่อเมือกของลำไส้เปลี่ยนไป ลด mucosal blood flow ส่งผลให้เกิดการขาดเลือดและสูญเสีย mucosal integrity⁽¹⁰⁾ ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียได้มากขึ้นในผู้ป่วยกลุ่มนี้

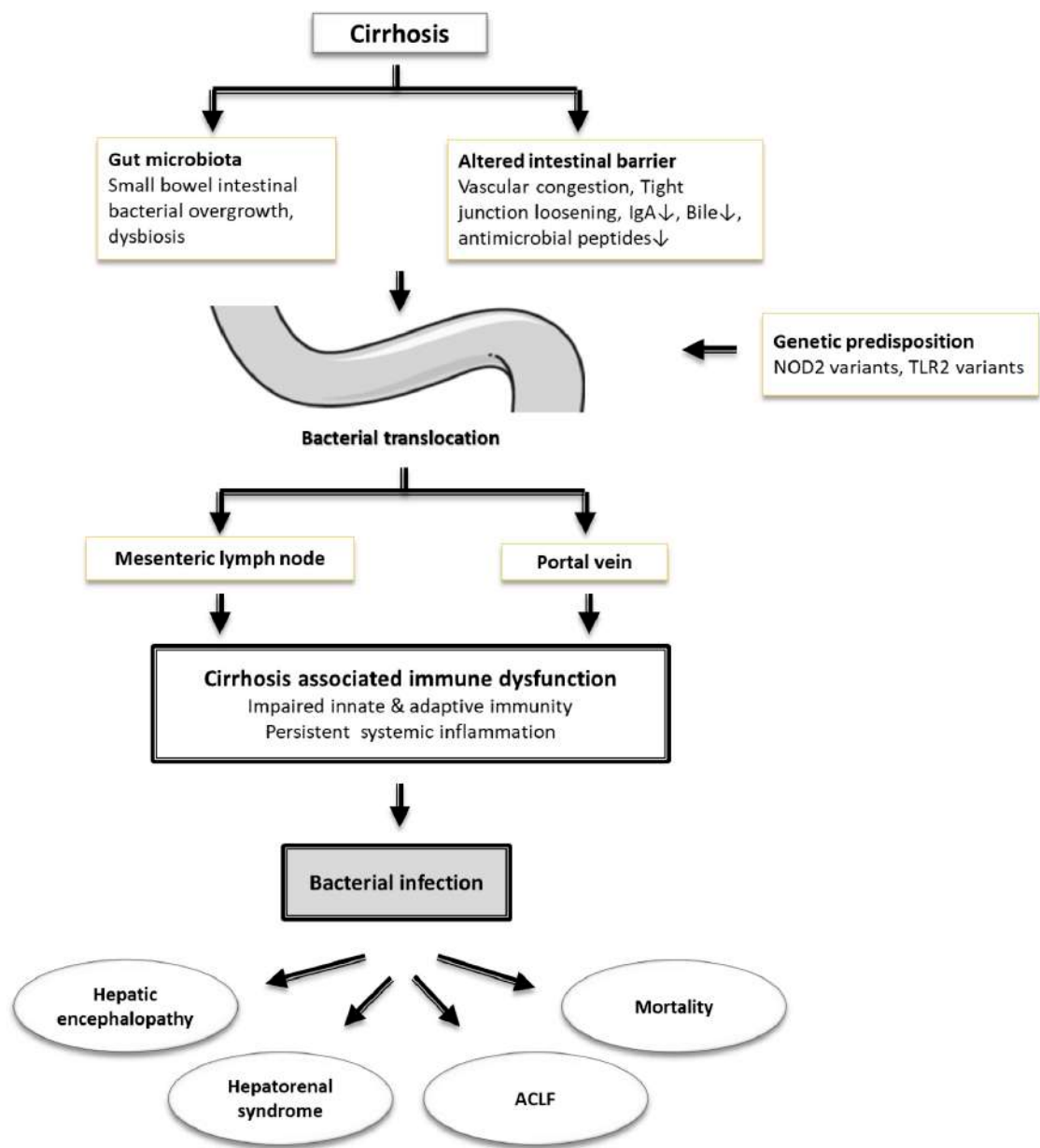
Impaired immunity

Cirrhosis associated immune dysfunction (CAID) เป็นภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunodeficiency) ที่กระทบทั้ง innate immune system และ adaptive immune system ในผู้ป่วยโรคตับแข็งดังนี้⁽¹⁰⁻¹³⁾

- จำนวนเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะ neutrophil, T-helper cell, cytotoxic T cell และ CD27+ memory B-cells ลดลง

- ความสามารถในการ phagocytosis และ mobilization ของ mononuclear phagocytic cell และ neutrophil ลดลง
- การตอบสนองต่อ mitogen และ CD40/TLR9 ของเม็ดเลือดขาวชนิด T cell และ B cell ลดลง
- จำนวน liver reticuloendothelial mononuclear cell ลดลงและมี porto-systemic shunting ตามมา ส่งผลให้การทำลายเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ลดลง และลดการสร้าง complements
- ม้ามทำงานมากผิดปกติ (hypersplenism) ทำให้เกิดการทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวอย่างรวดเร็ว

นอกจากนี้ CAID ยังมีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันอย่างต่อเนื่องผ่านทาง pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) และ damage-associated molecular patterns (DAMPs) ส่งผลให้เกิดการหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบ (pro-inflammatory cytokines) ตามมา^(11, 14)



รูปที่ 1. กลไกการเกิด bacterial translocation ในผู้ป่วยโรคตับแข็ง ประกอบไปด้วย increased intestinal permeability, impaired immunity และ bacterial overgrowth ส่งผลให้เกิดการเคลื่อนย้ายแบคทีเรียในลำไส้เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตหรือต่อมน้ำเหลืองในช่องท้อง เกิดการกระตุ้น proinflammatory cytokines และมีการติดเชื้อตามมา ส่งผลให้เกิดภาวะ hepatic encephalopathy, hepatorenal syndrome, acute-on-chronic liver failure และเกิดการเสียชีวิตตามมา

ผลของการติดเชื้อแบคทีเรีย

จากข้อมูลการศึกษาแบบพหุสถาบันใน 9 โรงพยาบาลระดับตติยภูมิทั่วประเทศไทย โดยทีมผู้วิจัยหลักจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในผู้ป่วยตับแข็งทั้งสิ้น 570 ราย พบว่าการติดเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุกระตุ้น

ที่พบบ่อยที่สุดที่ทำให้ผู้ป่วยต้องเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาลด้วย ภาวะ AD และ ACLF โดยพบความชุก ร้อยละ 48.1 และร้อยละ 61.9 ตามลำดับ ตามมาด้วยการเกิดภาวะเลือดออกจากทางเดินอาหารส่วนบน (upper gastrointestinal bleeding) และการตีเผลอกลอซอล นอกจากนี้การติดเชื้อแบคทีเรีย ยังเป็นปัจจัยสำคัญในการพยากรณ์อัตราการเสียชีวิตที่ 30 วันในผู้ป่วยตับแข็งที่มี ACLF (adjusted Odd ratio 1.72, 95% confidence interval 1.05-2.83, p-value = 0.03)⁽¹⁵⁾

ภาวะ ACLF นั้นสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในระยะ compensated cirrhosis และ decompensated cirrhosis พบได้ร้อยละ 30 ของผู้ป่วยโรคตับแข็งที่เข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล⁽¹⁶⁾ ระบบอวัยวะล้มเหลวในผู้ป่วยโรคตับเรื้อรังที่พบมากที่สุดคือไต คิดเป็นร้อยละ 55.8 รองลงมาเป็นที่ตับ คิดเป็นร้อยละ 43.6 และระบบการแข็งตัวของเลือด คิดเป็นร้อยละ 27.7⁽¹⁷⁾ การติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยกลุ่มนี้พบได้หลายตำแหน่ง การศึกษาแบบย้อนหลังจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในผู้ป่วยตับแข็งที่เข้ารับการรักษานในโรงพยาบาลจำนวน 146 ราย มีผู้ป่วยติดเชื้อทั้งหมด 75 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.3 ของสาเหตุการเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล โดยพบการติดเชื้อแบคทีเรีย 5 ลำดับแรกที่เป็นสาเหตุของการเข้ารับการรักษานในโรงพยาบาล ได้แก่ SBP ร้อยละ 13.7 การติดเชื้อในกระแสเลือดแบบปฐมภูมิ (primary bacteremia) ร้อยละ 11.6 ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) ร้อยละ 5.5 ติดเชื้อที่ตับและท่อน้ำดี (hepatobiliary infection) ร้อยละ 4.1 และติดเชื้อในปอด (pneumonia) ร้อยละ 4.1⁽¹⁸⁾

กลไกการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นในการเกิดภาวะ ACLF มีลำดับดังนี้⁽¹⁹⁾

1. เซลล์แมคโครฟาจในตับ (Kupffer cells) ได้รับการกระตุ้นจากสิ่งกระตุ้นผ่านทาง TLR, complement receptors (C3R, C5R) และ DAMPs ทำให้เกิดการกระตุ้น inflammatory mediators, cytokines เช่น TNF- α , interleukin (IL)-1, IL-6, และเอนไซม์ย่อยโปรตีนต่าง ๆ (proteolytic enzymes) เกิดการกระตุ้นเซลล์เยื่อบุให้ทำงานผิดปกติ (endothelial dysfunction)

2. เกิดการเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของผนังลำไส้ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาว endotoxin และ LPS ซึมผ่านไปยังตับ

3. Stellate cell ในตับได้รับการกระตุ้นจาก Kupffer cells ก่อให้เกิดการหลั่งสารต่าง ๆ เช่น endothelin-1, thromboxane A2, nitric oxide, prostaglandins ส่งผลให้ microcirculation เปลี่ยนแปลง ทำให้ความดันในตับสูงขึ้น กระตุ้นให้เกิดการอักเสบและส่งผลให้เซลล์ตับโดนทำลาย

4. เซลล์ neutrophil เข้ามาในตับเพิ่มขึ้น เกิดการหลั่งสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ร่วมกับการหลั่ง cytokines ต่าง ๆ ทำให้เซลล์ตับถูกทำลายเพิ่มขึ้น

จากกลไกทั้งหมดข้างต้น ส่งผลให้เกิดการอักเสบทั่วร่างกาย (systemic inflammation) และเกิดภาวะอวัยวะล้มเหลว (organ failure) ตามมา เมื่อมีการเกิดภาวะ ACLF อัตราการเสียชีวิตที่ 28 วันจะเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 32.8 เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยตับแข็งระยะ decompensated cirrhosis ที่ไม่มีภาวะ ACLF ที่มีอัตราการเสียชีวิตที่ 28 วันอยู่ที่ร้อยละ 1.9⁽¹⁷⁾

ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (biomarkers) ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในผู้ป่วยโรคตับแข็ง

การวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็วในผู้ป่วยโรคตับแข็งเป็นขั้นตอนที่สำคัญเนื่องจากผู้ป่วยมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะอวัยวะล้มเหลวและมีอัตราเสียชีวิตที่สูง ผู้ป่วยโรคตับแข็งอาจมีอาการน้อยและไม่มีอาการแสดงที่จำเพาะในช่วงแรก และมีตัวแปรที่บดบังอาการแสดงได้ ยกตัวอย่างเช่นผู้ป่วยได้รับยา beta-blockers ทำให้หัวใจเต้นช้า หรือเม็ดเลือดขาวต่ำจากภาวะ hypersplenism ทำให้ไม่เข้าเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะ systemic inflammatory response syndrome (SIRS) หรือผู้ป่วยอาจมีภาวะอวัยวะล้มเหลวจากปัจจัยกระตุ้นอื่น ๆ นอกเหนือจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับยาปฏิชีวนะอย่างไม่จำเป็นและก่อให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยาตามมาได้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเพื่อนำมาใช้วินิจฉัยภาวะการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็งเพื่อความรวดเร็วและแม่นยำ ในปัจจุบันยังไม่มีคำแนะนำในการใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเหล่านี้ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในผู้ป่วยโรคตับแข็ง ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่มีข้อมูลการศึกษา มีดังต่อไปนี้

Endocan

Endocan เป็นสารโปรตีนไกลแคนขนาด 50 กิโลดัลตันที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์เยื่อ (endothelial cell) ในปอดและไตเป็นหลัก และสามารถพบได้ในเซลล์เยื่อบุบริเวณตับ ทางเดินอาหาร ผิวหนังต่อมไทรอยด์และต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น⁽²⁰⁾ เพื่อตอบสนองต่อการอักเสบ endocan จะได้รับการกระตุ้นจากไซโตไคน์ต่าง ๆ เช่น TNF- α , IL-1, IL-6, และ LPS บนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ หน้าที่ของ endocan คือยับยั้งการจับกันระหว่าง Lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1) บนเซลล์เม็ดเลือดขาวกับ Cellular adhesion molecule 1,2 (CAM 1,2) บนเซลล์เยื่อในบริเวณที่มีการอักเสบ⁽²¹⁾ และมีค่าครึ่งชีวิตที่ 1 ชั่วโมง⁽²²⁾ สามารถตรวจพบระดับ endocan ในเลือดได้ภายใน 2 ชั่วโมงหลังถูกกระตุ้น ระดับเพิ่มสูงสุดที่ 18 ชั่วโมงและเริ่มลดการสร้างหลังถูกกระตุ้น 15 นาทีถึง 1.5 ชั่วโมง⁽²³⁾

มีการศึกษามากมายที่พบว่าระดับซีรัม endocan สูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรียและยังสัมพันธ์กับภาวะอวัยวะล้มเหลวในผู้ป่วยกลุ่มติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ⁽²⁴⁻²⁷⁾ ในผู้ป่วยโรคตับแข็งนั้น การศึกษาของ Zuwala-Jagiello และคณะ⁽²⁸⁾ พบว่าระดับซีรัม endocan ในผู้ป่วยโรคตับแข็งที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียนั้นสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีการติดเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อใช้ cut-off ที่ ≥ 2.05 ng/mL พบว่ามีค่าความไว (sensitivity) ร้อยละ 76.1 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 85 ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วย decompensated cirrhosis การศึกษานี้ยังเปรียบเทียบความสามารถในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียของ endocan เทียบกับ procalcitonin, CRP และ TNF- α พบว่า endocan มีความสามารถในการวินิจฉัยมากที่สุด โดยมีค่า area under the receiver operating characteristic (AUC-ROC) curve เท่ากับ 0.832, 0.734, 0.584 และ 0.599 ตามลำดับ นอกจากนี้ ระดับซีรัม endocan เป็น independent predictor ของการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียของน้ำในช่องท้อง (SBP) และระดับซีรัม endocan ที่ cut-off ≥ 2.05 ng/mL มีค่าความไวร้อยละ 72.9 และความจำเพาะร้อยละ 83.9 ค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.873 ในการทำนายการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียของน้ำในช่องท้อง

การศึกษาของ Kassem และคณะ⁽²⁹⁾ พบว่าในการวินิจฉัย SBP ระดับซีรัม endocan ที่ cut-off ≥ 2.03 ng/mL มีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 90 และค่าความจำเพาะร้อยละ 83.7 และระดับ endocan ในน้ำในช่องท้องที่ cut-off ≥ 0.65 ng/mL มีค่าความไวร้อยละ 88.9 และความจำเพาะร้อยละ 78.5

ข้อจำกัดของ endocan คือ นอกเหนือจากภาวะที่มีการอักเสบและกระตุ้นเซลล์เยื่อบุนั้น endocan ยังถูกหลั่งออกมาโดยเซลล์มะเร็ง เช่น Glioblastoma⁽³⁰⁾, pituitary adenomas⁽³¹⁾ มะเร็งที่ไต⁽³²⁾ และปอด⁽³³⁾ เป็นต้น หรือได้รับการกระตุ้นการเกิดใหม่ของหลอดเลือดในเซลล์มะเร็งผ่าน Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) เช่น มะเร็งตับ⁽³⁴⁾ มะเร็งรังไข่และเยื่อบุมดลูก⁽³⁵⁾ เป็นต้น และในโรคหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน มีระดับซีรัม endocan ที่สูงขึ้นและสัมพันธ์กับความรุนแรงของการอุดตันหลอดเลือดหัวใจ⁽³⁶⁻³⁸⁾ จึงควรใช้ความระมัดระวังในการแปลผลระดับซีรัม endocan ในผู้ป่วยกลุ่มนี้

Procalcitonin

Procalcitonin คือ pro-hormone ของฮอร์โมน calcitonin ในภาวะปกติจะถูกหลั่งจาก parafollicular cell ในต่อมไทรอยด์ เมื่อเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในร่างกาย procalcitonin จะถูกหลั่งจากเซลล์ตับไขมัน และกล้ามเนื้อเป็นหลัก โดยถูกกระตุ้นด้วย microbial toxin, TNF- α , IL-1, IL-6⁽³⁹⁾ และถูกยับยั้งโดย interferon γ ⁽⁴⁰⁾ ระดับซีรัม procalcitonin จะเริ่มสูงขึ้นที่ 4 ชั่วโมงหลังเกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย มีระดับสูงสุดที่ 8 ถึง 24 ชั่วโมง⁽⁴¹⁾ และมีค่าครึ่งชีวิตที่ 22-26 ชั่วโมง⁽⁴²⁾

ปัจจุบันมีการใช้ระดับซีรัม procalcitonin cut off < 0.5 ng/mL ในผู้ป่วยทั่วไปเพื่อคัดผู้ป่วยที่ไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรียออก⁽⁴³⁾ แต่ในผู้ป่วยโรคตับนั้นข้อจำกัดคือ ระดับซีรัม procalcitonin จะมีค่าสูงขึ้นโดยไม่สัมพันธ์กับการติดเชื้อแบคทีเรียได้⁽⁴⁴⁾ โดยมีการกระตุ้นจาก DAMPs ที่หลั่งจากเซลล์ตับที่ได้รับความเสียหาย⁽⁴⁵⁾ และ procalcitonin เองยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของเซลล์ตับและเกิดการตายของเซลล์ตับตามมา⁽⁴⁶⁾ มีการศึกษาในผู้ป่วย ACLF พบว่าที่ cut off > 0.5 ng/mL นั้นมีค่าความจำเพาะในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียเพียงร้อยละ 41.83 และมีค่า positive predictive value (PPV) ที่ร้อยละ 50.62 เมื่อใช้ค่า best cut off ของซีรัม procalcitonin ที่ > 1.01 ng/mL พบว่ามีค่าความไวร้อยละ 42.7 ความจำเพาะร้อยละ 78.9 PPV ร้อยละ 60.9 และ NPV (negative predictive value) ร้อยละ 63.4 มีค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.63 ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในผู้ป่วยกลุ่มนี้⁽⁴⁷⁾

มีการศึกษาการใช้ระดับซีรัม procalcitonin ในการวินิจฉัย SBP อย่างแพร่หลาย โดยการศึกษาของ Cekin และคณะ⁽⁴⁸⁾ พบว่าระดับซีรัม procalcitonin ในกลุ่มผู้ป่วยโรคตับแข็งที่มีผลเพาะเชื้อแบคทีเรียในน้ำในช่องท้องเป็นบวกสูงกว่ากลุ่มที่มี SBP มีผลเพาะเชื้อเป็นลบอย่างมีนัยสำคัญ โดยระดับซีรัม procalcitonin ที่ cut off ≥ 0.61 ng/mL มีค่าความไวร้อยละ 100 และความจำเพาะร้อยละ 92 ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในช่องท้องที่มีผลเพาะเชื้อเป็นบวก และมีค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.98 ในการคัดผู้ป่วยที่ไม่มี SBP ออก นอกจากนี้ระดับซีรัม procalcitonin ยังสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงของ SBP และใช้ทำนายการเกิดการติดเชื้อนี้ได้ดีกว่า CRP

ข้อจำกัดของ procalcitonin คือมีการขับออกทางไตเป็นหลัก อาจทำให้ระดับซีรัม procalcitonin สูงขึ้นได้ในผู้ป่วยโรคไตแข็งมีภาวะไตวายเฉียบพลันหรือเรื้อรังร่วมด้วยโดยไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรีย⁽⁴⁹⁾

C-reactive protein (CRP)

CRP เป็น acute phase protein ที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ตับหลังมีการกระตุ้นด้วย pro-inflammatory cytokines เช่น TNF- α และ IL-6 โดยระดับของซีรัม CRP จะสูงขึ้นภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วโมงหลังเกิดการอักเสบและมีค่าครึ่งชีวิตที่ 18 ชั่วโมง จึงมีการนำซีรัม CRP มาใช้ในการติดตามการรักษาเนื่องจากมีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นในการศึกษาต่าง ๆ นิยมใช้ซีรัม CRP เนื่องจากมีราคาไม่แพงและสามารถส่งได้ในโรงพยาบาลทั่วไป⁽⁵⁰⁾ แต่ในผู้ป่วยโรคไตแข็งที่มีการทำงานของไตลดลงอย่างรุนแรงควรแปลผลระดับซีรัม CRP ด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากมีการหลั่ง CRP จากเซลล์ตับลดลง⁽⁵¹⁾ ในการศึกษาของ Papp และคณะ⁽⁵²⁾ พบว่าระดับซีรัม CRP ที่ cut off >10 mg/L มี AUC-ROC สูงที่สุดในการวินิจฉัยการติดเชื้อเท่ากับ 0.93 โดยมีค่าความไวร้อยละ 84 และค่าความจำเพาะร้อยละ 91 และระดับซีรัม CRP ที่มากกว่า 10 mg/L ยังเป็น good prognostic factor ของการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในระยะเวลา 3 เดือน เมื่อใช้ระดับซีรัม procalcitonin ที่ cut off >0.15 ng/mL ร่วมกับระดับซีรัม CRP ที่ cut off >10 mg/L จะมีค่าความไวเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 และ negative prognostic value เพิ่มขึ้นร้อยละ 5 เทียบกับการใช้ระดับซีรัม CRP เพียงอย่างเดียว ในผู้ป่วยโรคไตแข็งที่มี SBP พบว่าระดับ ascitic CRP นั้นสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มี SBP อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁵³⁾

ข้อจำกัดของการใช้ระดับซีรัม CRP ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรีย คือในภาวะที่มีการอักเสบในร่างกายจะมีการผลิตซีรัม CRP เพิ่มขึ้นได้โดยไม่ได้จำเพาะกับการติดเชื้อแบคทีเรีย⁽⁵⁴⁾

Presepsin

Presepsin เป็นส่วน N-terminal fragment ขนาด 13-kDa ที่เกิดจากการจับกันของ LPS และ membrane co-receptor CD14 บน macrophage และ neutrophil และเกิด proteolysis ขึ้น โดยเป็นส่วนหนึ่งของ innate immunity⁽⁵⁵⁾ โดยมี half-life ที่ 4-5 ชั่วโมง⁽⁵⁶⁾ มีรายงานว่าซีรัม presepsin มีความแม่นยำในการวินิจฉัยการติดเชื้อในผู้ป่วยอาการหนักที่ไม่ได้เป็นโรคไตแข็ง⁽⁵⁷⁾ จากข้อมูล meta-analysis ในผู้ป่วยที่มีภาวะ SIRS จำนวน 1,815 ราย พบว่าซีรัม presepsin มี pooled sensitivity ร้อยละ 86 pooled specificity ร้อยละ 78 และมีค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.89 ในการวินิจฉัยภาวะ sepsis⁽⁵⁸⁾ ส่วนในผู้ป่วยโรคไตแข็งนั้นพบว่าซีรัม presepsin สามารถวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคไตแข็งได้ไม่แตกต่างจากซีรัม procalcitonin และซีรัม CRP อย่างมีนัยสำคัญ โดยค่า AUC-ROC ของซีรัม presepsin ที่ cut off >844 pg/mL เท่ากับ 0.79 ค่า AUC-ROC ของซีรัม procalcitonin ที่ cut off >0.39 micromol/L เท่ากับ 0.77 (P=0.668) และค่า AUC-ROC ของซีรัม CRP ที่ cut off >10.8 mg/L เท่ากับ 0.86 (P=0.057)⁽⁵⁹⁾ และงานวิจัยของ Fisher และคณะพบว่า best cut off ของซีรัม presepsin เท่ากับ >1,444.5 pg/mL มีค่าความไวร้อยละ 50 ค่าความจำเพาะร้อยละ 86 และค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.75⁽⁶⁰⁾ แต่ยังมีข้อจำกัดในการนำซีรัม presepsin มาใช้ในผู้ป่วยโรคไตแข็งเนื่องจากยังมีจำนวนการศึกษาน้อยในผู้ป่วยกลุ่มนี้

Calprotectin

Calprotectin เป็น calcium-binding และ zinc-binding protein ที่พบในเซลล์ neutrophil โดยจะหลั่ง calprotectin ออกจากเซลล์เมื่อมี cell activation และ cell death ดังนั้น calprotectin จึงสามารถนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การอักเสบของลำไส้ได้⁽⁶¹⁾ โดยมีข้อมูลสนับสนุนว่าการตรวจพบ calprotectin ในอุจจาระหรือน้ำในช่องท้องนั้นสัมพันธ์กับการเคลื่อนย้ายของ neutrophil เข้าไปในลำไส้หรือในช่องท้อง⁽⁶²⁾

Fecal calprotectin ได้รับการศึกษาอย่างแพร่หลายในโรค inflammatory bowel disease⁽⁶³⁾ เป็นการตรวจที่ทำได้ง่ายโดย calprotectin จะอยู่ในอุจจาระที่อุณหภูมิต้องได้ประมาณ 1 สัปดาห์⁽⁶⁴⁾ การศึกษาในผู้ป่วยโรคตับแข็งนั้นพบว่าระดับ fecal calprotectin สูงกว่าในผู้ป่วยโรคตับแข็งเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และระดับ fecal calprotectin ยังสัมพันธ์กับการเกิด SBP ระดับของ hepatic encephalopathy ความรุนแรงของโรคตับตาม Child-Pugh score และ MELD score⁽⁶⁵⁾

สำหรับ Ascitic calprotectin นั้นได้รับการศึกษาในผู้ป่วยโรคตับแข็งเพื่อช่วยวินิจฉัยภาวะ SBP โดยพบว่ามียกระดับ ascitic calprotectin ที่สูงขึ้นในน้ำในช่องท้องที่มี polymorphonuclear cell >250 cells/ μ L โดยที่ค่า cut off >630 ng/mL นั้นมีความไวร้อยละ 94.8 และค่าความจำเพาะที่ 89.2 ในการวินิจฉัยภาวะ SBP⁽⁶⁶⁾ อีกหนึ่งการศึกษาพบว่าที่ค่า cut off >445 ng/mL นั้นมีความไวร้อยละ 95.4 และค่าความจำเพาะร้อยละ 85.2 ในการวินิจฉัยภาวะ SBP⁽⁶⁷⁾ และสัดส่วนของ ascitic calprotectin ต่อ ascitic total protein นั้นช่วยวินิจฉัยภาวะ SBP ได้ดีกว่าการใช้ ascitic calprotectin เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าความไวร้อยละ 93 ค่าความจำเพาะร้อยละ 79 และค่า AUC-ROC เท่ากับ 0.93 และสัดส่วนที่สูงขึ้นนี้ยังสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำลงที่ 30 วัน⁽⁶⁸⁾ แต่ยังมีข้อจำกัดในการนำไปใช้เนื่องจากมีจำนวนการศึกษาน้อย

Bacterial deoxyribonucleic acid (DNA)

การตรวจ bacterial DNA โดยวิธีการ polymerase chain reaction (PCR)-based เป็นวิธีการที่มีความไวมากกว่าการเพาะเชื้อ โดยตรวจพบ bacterial DNA ถึงร้อยละ 30-40 ในซีรัมและน้ำในช่องท้องที่ไม่พบเชื้อแบคทีเรียจากการเพาะเชื้อ^(9, 69, 70) มีความไวร้อยละ 100 และค่าความจำเพาะร้อยละ 91.5⁽⁷¹⁾ ผู้ป่วยโรค decompensated cirrhosis ร้อยละ 35 ตรวจพบ bacterial DNA ในน้ำในช่องท้อง แต่พบว่ามีเพียงร้อยละ 3 ที่มีผลเพาะเชื้อเป็นบวก และพบว่าร้อยละ 79 ของน้ำในช่องท้องที่ตรวจพบ bacterial DNA มี total leukocyte count ≤ 500 cells/mm³⁽⁷²⁾ Bacterial DNA นั้นกระตุ้นเกิดการหลั่ง pro-inflammatory cytokines และ nitric oxide ทำให้เกิด systemic inflammation ตามมา⁽⁷⁰⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การตรวจพบ bacterial DNA โดยวิธีการ qualitative PCR ในซีรัมและน้ำในช่องท้องของผู้ป่วยโรคตับแข็งที่ไม่มีการติดเชื้อแบคทีเรียสัมพันธ์กับพยากรณ์โรคที่ไม่ดีและสัมพันธ์กับการเกิด ACLF แต่ไม่สามารถทำนายการเกิด SBP ได้⁽⁹⁾ ส่วนการศึกษาที่ใช้ multiplex PCR พบว่าการตรวจพบ bacterial DNA สัมพันธ์กับการเกิด SBP การติดเชื้อในกระแสเลือด ACLF และ hepatic encephalopathy แต่ไม่ได้เป็นตัวทำนายอัตราการเสียชีวิต แต่การตรวจพบยีนการดื้อยาจาก DNA ของเชื้อแบคทีเรียในเลือดหรือน้ำในช่องท้องโดยไม่มีการติดเชื้อ

เชื่อนั้นสัมพันธ์กับอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าที่ 1 ปี⁽⁷³⁾ ข้อจำกัดของการส่งตรวจ bacterial DNA คือมีค่าใช้จ่ายสูงและต้องใช้อุปกรณ์พิเศษในการส่งตรวจ ทำให้ไม่สามารถส่งตรวจได้ในโรงพยาบาลทั่วไป⁽⁷¹⁾

ตารางที่ 1 สรุปข้อมูลของดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่ใช้ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยตับแข็ง โดยสรุปแล้ว การใช้ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพเพื่อช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยโรคตับแข็งนั้น มีความน่าสนใจเนื่องจากมีความสัมพันธ์กับกลไกการเกิดโรค มีความจำเพาะและความแม่นยำในการวินิจฉัย แต่ยังมีข้อจำกัดในด้านราคาและ availability ในการส่งตรวจ รวมถึงยังไม่มีข้อมูล cut off ที่เป็นเอกฉันท์ที่สามารถนำไปใช้ได้จริง ดังนั้นการนำดัชนีชี้วัดทางชีวภาพไปใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบคทีเรียในผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

ตารางที่ 1. สรุปดัชนีชี้วัดทางชีวภาพในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อแบคทีเรีย

ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ	ค่าครึ่งชีวิต	Cut-off	ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)	ข้อจำกัด
Endocan ⁽²⁸⁾	1 ชั่วโมง	2.05 ng/mL	76.1	85	- ระดับซีรัม endocan สูงขึ้นในโรคมะเร็งและหลอดเลือดหัวใจตีบเฉียบพลัน - ยังมีจำนวนการศึกษาในผู้ป่วยโรคตับแข็งน้อย
Procalcitonin ⁽⁴⁷⁾	22-26 ชั่วโมง	1.01 ng/mL	42.7	78.9	- ระดับซีรัม procalcitonin สูงขึ้นในภาวะไตวายเฉียบพลันและเรื้อรัง รวมถึงโรคตับแข็ง
CRP ⁽⁵²⁾	18 ชั่วโมง	10 mg/L	84	91	- ระดับซีรัม CRP ต่ำลงในผู้ป่วยโรคตับแข็งและระดับสูงขึ้นเมื่อมีภาวะอักเสบในร่างกาย
Presepsin ⁽⁶⁰⁾	4-5 ชั่วโมง	1,444.5 pg/mL	50	86	- ยังมีจำนวนการศึกษาในผู้ป่วยโรคตับแข็งน้อย
Ascitic calprotectin ⁽⁶⁶⁾	5 ชั่วโมง	630 ng/mL	94.8	89.2	- ยังมีจำนวนการศึกษาในผู้ป่วยโรคตับแข็งน้อย
Bacterial DNA ⁽⁷¹⁾	2-4 วัน	positive	100	91.5	- ค่าใช้จ่ายสูงและต้องใช้อุปกรณ์พิเศษในการส่งตรวจ ทำให้ไม่สามารถส่งตรวจได้ในโรงพยาบาลทั่วไป

เอกสารอ้างอิง

1. Fernandez 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(10):1870-80.
2. 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(4):1246-56, 56 e1-5.

3. Man SM, Kaakoush NO, Mitchell HM. The role of bacteria and pattern-recognition receptors in Crohn's disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(3):152-68.
4. Appenrodt B, Grunhage F, Gentemann MG, Thyssen L, Sauerbruch T, Lammert F. Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology*. 2010;51(4):1327-33.
5. Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grunhage 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(5):1010-6.
6. Littman DR, Pamer EG. Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses. *Cell Host Microbe*. 2011;10(4):311-23.
7. Bellot P, Garcia-Pagan JC, Frances R, Abraldes JG, Navasa M, Perez-Mateo M, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2010;52(6):2044-52.
8. Chang CS, Chen GH, Lien HC, Yeh HZ. Small intestine dysmotility and bacterial overgrowth in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology*. 1998;28(5):1187-90.
9. Zapater P, Frances R, Gonzalez-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(6):1924-31.
10. Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, Mandorfer M, Heinisch BB, Hayden H, et al. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;58(5):911-21.
11. Tritto G, Bechlis Z, Stadlbauer V, Davies N, Frances R, Shah N, et al. Evidence of neutrophil functional defect despite inflammation in stable cirrhosis. *J Hepatol*. 2011;55(3):574-81.
12. Doi H, Iyer TK, Carpenter E, Li H, Chang KM, Vonderheide RH, et al. Dysfunctional B-cell activation in cirrhosis resulting from hepatitis C infection associated with disappearance of CD27-positive B-cell population. *Hepatology*. 2012;55(3):709-19.
13. Rimola A, Soto R, Bory F, Arroyo V, Piera C, Rodes J. Reticuloendothelial system phagocytic activity in cirrhosis and its relation to bacterial infections and prognosis. *Hepatology*. 1984;4(1):53-8.
14. Malik R, Mookerjee RP, Jalan R. Infection and inflammation in liver failure: two sides of the same coin. *J Hepatol*. 2009;51(3):426-9.
15. Kessarin Thanapirom, Tongluk Teerasarntipan, Sakkarin Chirapongsathorn, Tanita Suttichaimongkol, Naichaya Chamroonkul, Chalermrat Bunchorntavakul, et al. Prevalence, characteristics and prognosis of bacterial infection in patients with decompensated cirrhosis and acute-on-chronic liver failure: a multi-center study. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver Meeting. 2021.
16. Jalan R, Saliba F, Pavesi M, Amoros A, Moreau R, Gines P, et al. Development and validation of a prognostic score to predict mortality in patients with acute-on-chronic liver failure. *J Hepatol*. 2014;61(5):1038-47.
17. 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(7):1426-37, 37 e1-9.
18. Salisa Wejnaruemarn JS, Tongluk Teerasarntipan, Roongruedee Chaiteerakij, Chonlada Phathong, Piyawat Komolmit, Pisit Tangkijvanich, Sombat Treeprasertsuk. Bacterial Infections; Independent Predictors of 30-Day Mortality in Acute Decompensated Cirrhotic Patients With and Without ACLF. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver Meeting. 2018.
19. Sarin SK, Choudhury A. Acute-on-chronic liver failure: terminology, mechanisms and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(3):131-49.

20. Bessa J, Albino-Teixeira A, Reina-Couto M, Sousa T. Endocan: A novel biomarker for risk stratification, prognosis and therapeutic monitoring in human cardiovascular and renal diseases. *Clin Chim Acta*. 2020;509:310-35.

21. Kechagia M, Papassotiropoulos I, Gourgoulidis KI. Endocan and the respiratory system: a review. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016;11:3179-87.

22. Madhivathanan PR, Fletcher N, Gaze D, Thomson R, Chandrasekaran V, Al-Subaie N, et al. Perioperative kinetics of endocan in patients undergoing cardiac surgery with and without cardiopulmonary bypass. *Cytokine*. 2016;83:8-12.

23. Lassalle P, Molet S, Janin A, Heyden JV, Tavernier J, Fiers W, et al. ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem*. 1996;271(34):20458-64.

24. Mihajlovic DM, Lendak DF, Brkic SV, Draskovic BG, Mitic GP, Novakov Mikic AS, et al. Endocan is useful biomarker of survival and severity in sepsis. *Microvasc Res*. 2014;93:92-7.

25. Palud A, Parmentier-Decrucq E, Pastre J, De Freitas Caires N, Lassalle P, Mathieu D. Evaluation of endothelial biomarkers as predictors of organ failures in septic shock patients. *Cytokine*. 2015;73(2):213-8.

26. Pauly D, Hamed S, Behnes M, Lepiorz D, Lang S, Akin I, et al. Endothelial cell-specific molecule-1/endocan: Diagnostic and prognostic value in patients suffering from severe sepsis and septic shock. *J Crit Care*. 2016;31(1):68-75.

27. Scherpereel A, Depontieu F, Grigoriu B, Cavestri B, Tsicopoulos A, Gentina T, et al. Endocan, a new endothelial marker in human sepsis. *Crit Care Med*. 2006;34(2):532-7.

28. Zuwala-Jagiello J, Simon K, Kukla M, Murawska-Cialowicz E, Gorka-Dynysiewicz J, Grzebyk E, et al. Increased circulating endocan in patients with cirrhosis: relation to bacterial infection and severity of disease. *J Physiol Pharmacol*. 2017;68(2):273-82.

29. Arafat Kassem, Hosam Aldeen Salah Shabana, Mabrouk Mahmoud Aboelenin, Salah HE. COMPARATIVE STUDY OF ASCITIC FLUID AND SERUM LEVELS OF CALPROTECTIN, PROCALCITONIN AND ENDOCAN IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS FOR EARLY DIAGNOSIS AND PREDICTION OF SPONTANEOUS BACTERIAL PERITONITIS. *Al-Azhar Medical Journal*. 2018;47(2):257-70.

30. Maurage CA, Adam E, Mineo JF, Sarrazin S, Debunne M, Siminski RM, et al. Endocan expression and localization in human glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2009;68(6):633-41.

31. Cornelius A, Cortet-Rudelli C, Assaker R, Kerdraon O, Gevaert MH, Prevot V, et al. Endothelial expression of endocan is strongly associated with tumor progression in pituitary adenoma. *Brain Pathol*. 2012;22(6):757-64.

32. Leroy X, Aubert S, Zini L, Franquet H, Kervoaze G, Villers A, et al. Vascular endocan (ESM-1) is markedly overexpressed in clear cell renal cell carcinoma. *Histopathology*. 2010;56(2):180-7.

33. Grigoriu BD, Depontieu F, Scherpereel A, Gourcerol D, Devos P, Ouatas T, et al. Endocan expression and relationship with survival in human non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(15):4575-82.

34. Nault JC, Guyot E, Laguillier C, Chevret S, Ganne-Carrie N, N'Kontchou G, et al. Serum proteoglycans as prognostic biomarkers of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(8):1343-52.

35. Laloglu E, Kumtepe Y, Aksoy H, Topdagi Yilmaz EP. Serum endocan levels in endometrial and ovarian cancers. *J Clin Lab Anal*. 2017;31(5).

36. Xiong C, Zhao ZW, Chen ZY, Wu LZ, Luo YK, Hu FD, et al. Elevated Human Endothelial Cell-Specific Molecule-1 Level and Its Association With Coronary Artery Disease in Patients With Hypertension. *J Investig Med*. 2015;63(7):867-70.

37. Qiu C, Sui J, Zhang Q, Wei P, Wang P, Fu Q. Relationship of Endothelial Cell-Specific Molecule 1 Level in Stress Hyperglycemia Patients With Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: A Pilot Study.

- Angiology. 2016;67(9):829-34.
38. Wang XS, Yang W, Luo T, Wang JM, Jing YY. Serum endocan levels are correlated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with hypertension. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2015;19(3):124-7.
39. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC Med*. 2011;9:107.
40. Linscheid P, Seboek D, Nylen ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology*. 2003;144(12):5578-84.
41. Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66 Suppl 2:ii33-40.
42. Davies J. Procalcitonin. *J Clin Pathol*. 2015;68(9):675-9.
43. Christ-Crain M, Schuetz P, Huber AR, Muller B. [Procalcitonin - importance for the diagnosis of bacterial infections]. *Ther Umsch*. 2008;65(9):559-68.
44. Sato S, Sato S, Tsuzura H, Ikeda Y, Hayashida S, Takahashi S, et al. Elevated serum procalcitonin levels and their association with the prognosis of patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2020;32(9):1222-8.
45. Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(4):609-34.
46. Sauer M, Doss S, Ehler J, Mencke T, Wagner NM. Procalcitonin Impairs Liver Cell Viability and Function In Vitro: A Potential New Mechanism of Liver Dysfunction and Failure during Sepsis? *Biomed Res Int*. 2017;2017:6130725.
47. Lin S, Yan Y, Wu Y, Van Poucke S, Wang M, Zhu Y, et al. Procalcitonin as a biomarker for diagnose of bacterial infection in patients with acute-on-chronic liver failure. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2020;44(2):e32-e4.
48. Cekin Y, Cekin AH, Duman A, Yilmaz U, Yesil B, Yolcular BO. The role of serum procalcitonin levels in predicting ascitic fluid infection in hospitalized cirrhotic and non-cirrhotic patients. *Int J Med Sci*. 2013;10(10):1367-74.
49. Lu XL, Xiao ZH, Yang MY, Zhu YM. Diagnostic value of serum procalcitonin in patients with chronic renal insufficiency: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(1):122-9.
50. Mookerjee RP. Prognosis and Biomarkers in Acute-on-Chronic Liver Failure. *Semin Liver Dis*. 2016;36(2):127-32.
51. Silvestre JP, Coelho LM, Pova PM. Impact of fulminant hepatic failure in C-reactive protein? *J Crit Care*. 2010;25(4):657 e7-12.
52. 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(4):603-11.
53. Kadam N, Acharya S, Shukla S, Gupta K. Ascitic Fluid High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP). A Prognostic Marker in Cirrhosis with Spontaneous Bacterial Peritonitis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(4):OC20-4.
54. Du Clos TW, Mold C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. *Immunol Res*. 2004;30(3):261-77.
55. Chenevier-Gobeaux C, Borderie D, Weiss N, Mallet-Coste T, Claessens YE. Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *Clin Chim Acta*. 2015;450:97-103.
56. Dragoescu AN, Padureanu V, Stanculescu AD, Chiutu LC, Florescu DN, Gheonea IA, et al. Presepsin as a Potential Prognostic Marker for Sepsis According to Actual Practice Guidelines. *J Pers Med*. 2020;11(1).
57. Galliera E, Massaccesi L, de Vecchi E, Banfi G, Romanelli MMC. Clinical application of presepsin as diagnostic biomarker of infection: overview and updates. *Clin Chem Lab Med*. 2019;58(1):11-7.

58. Zhang X, Liu D, Liu YN, Wang R, Xie LX. The accuracy of presepsin (sCD14-ST) for the diagnosis of sepsis in adults: a meta-analysis. *Crit Care*. 2015;19:323.

59. Papp M, Tornai T, Vitalis Z, Tornai I, Tornai D, Dinya T, et al. Presepsin teardown - pitfalls of biomarkers in the diagnosis and prognosis of bacterial infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2016;22(41):9172-85.

60. Fischer P, Grigoras C, Bugariu A, Nicoara-Farcau O, Stefanescu H, Benea A, et al. Are presepsin and resistin better markers for bacterial infection in patients with decompensated liver cirrhosis? *Dig Liver Dis*. 2019;51(12):1685-91.

61. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Emerging role of calprotectin in gastroenterology. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003;18(7):756-62.

62. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006;55(3):426-31.

63. Sipponen T. Diagnostics and prognostics of inflammatory bowel disease with fecal neutrophil-derived biomarkers calprotectin and lactoferrin. *Dig Dis*. 2013;31(3-4):336-44.

64. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol*. 1992;27(9):793-8.

65. 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(9):1406-15.

66. 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(13):2028-36.

67. Abdel-Razik A, Mousa N, Elhamady D, Elhelaly R, Elzebery R, Elbaz S, et al. Ascitic Fluid Calprotectin and Serum Procalcitonin as Accurate Diagnostic Markers for Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gut Liver*. 2016;10(4):624-31.

68. Lutz P, Pfarr K, Nischalke HD, Kramer B, Goeser F, Glassner A, et al. The ratio of calprotectin to total protein as a diagnostic and prognostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis and ascites. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):2031-9.

69. Such J, Frances R, Munoz 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(1):135-41.

70. Frances R, Zapater P, Gonzalez-Navajas JM, Munoz C, Cano 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(3):978-85.

71. 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(6):1310-24.

72. Krohn S, Bohm 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(5):1754-7.

73. 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(8):1133-42.