

Pemeriksaan Laboratorium sebagai Indikator Sepsis dan Syok Septik

¹Diana S. Purwanto, ²Dalima A.W. Astrawinata

¹Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta

Email: dianashintapurwanto@unsrat.ac.id

Abstract: The complexity of the pathogenesis and pathophysiology of sepsis involves almost all types of cells, tissues, and organ systems. Therefore, there are numbers of laboratory tests that can be used as biomarkers of sepsis and septic shock. Some widely used biomarkers are divided into groups of bacterial products, acute phase proteins, tissue hypoperfusion, coagulation mediators, cell surfaces, and cytokines.

Keywords: sepsis, septic shock, biomarkers

Abstrak: Kompleksnya patogenesis dan patofisiologi sepsis melibatkan hampir semua jenis sel, jaringan, dan sistem organ. Oleh karena itu, terdapat banyak parameter laboratorik yang dapat dijadikan biomarker sepsis dan syok septik. Berbagai biomarker yang banyak digunakan terbagi dalam kelompokan produk bakteri, protein fase akut, hipoperfusi jaringan, mediator koagulasi, permukaan sel, dan sitokin.

Kata kunci: sepsis, syok septik, biomarker

Sepsis adalah salah satu penyebab kematian paling umum pada pasien yang dirawat di rumah sakit. Sepsis dan syok septik memiliki patogenesis dan patofisiologi kompleks yang melibatkan hampir semua jenis sel, jaringan, dan sistem organ. Pengembangan biomarker spesifik sepsis yang dapat menilai respon pejamu dan mendeteksi patogen penyebab, berguna dalam peningkatan penatalaksanaan klinis pasien sepsis. Sampai saat ini, berbagai penelitian sistematis telah mengidentifikasi hampir sekitar 180 molekul berpotensi menjadi biomarker sepsis. Meskipun demikian hanya 20% yang telah diteliti secara khusus sebagai biomarker sepsis. Kombinasi beberapa biomarker dianggap dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas.^{1,2}

Tulisan ini akan membahas mengenai beberapa biomarker sepsis yang dibagi dalam kelompokan produk bakteri, protein fase akut, hipoperfusi jaringan, mediator koagulasi, permukaan sel, dan sitokin.

Produk Bakteri

Identifikasi mikroorganisme penyebab infeksi merupakan biomarker utama sepsis. Identifikasi patogen bertujuan untuk konfirmasi diagnosis dan memberikan informasi target spesifik untuk terapi. Biakan darah untuk deteksi bakteremia merupakan pilihan utama pemeriksaan, terutama saat pasien tidak menunjukkan tanda atau gejala lokal. Adanya *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) meningkatkan kemungkinan hasil biakan darah yang positif, tetapi hasil negatif juga sering ditemukan pada pasien dengan gambaran klinis sepsis. Hasil positif hanya ditemukan sekitar 20-40% pada pasien dengan diagnosis sepsis. Selain itu, biakan darah membutuhkan waktu 3-5 hari untuk mendapatkan hasil positif, dan memiliki sensitivitas yang rendah terhadap bakteri yang lambat dan sukar pertumbuhannya (*fastidious*).^{1,2}

Banyak pendekatan telah dilakukan untuk deteksi bakteremia melalui amplifi-

kasi sekuens asam nukleat sebagai target spesifik. Sebagai contoh, sistem *real time multiplexed polymerase chain reaction* (PCR) atau amplifikasi primer universal 16S *ribosomal ribonucleic acid* (rRNA) yang dilanjutkan dengan sekuensing target amplifikasi didesain untuk deteksi bakteri dan jamur yang paling sering pada pasien sepsis. Pada studi prospektif terhadap pasien sepsis berat di ruang perawatan intensif, metode PCR mampu mengidentifikasi spesimen positif dua kali lebih banyak dibanding biakan darah konvensional.^{1,2}

Metode lain yang mulai digunakan beberapa tahun terakhir ialah *matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry* (MALDI-TOF-MS), dianggap mampu mempercepat identifikasi bakteri dari isolat biakan dalam waktu 4 jam dibanding dengan biakan dan uji biokimia/serologi konvensional. Metode MALDI-TOF-MS adalah teknik ionisasi komponen kimia menjadi molekul bermuatan dan rasio masa terhadap muatan (m/z) diukur. Sampel untuk MALDI-TOF-MS dibuat dengan cara mencampur isolat biakan dengan suatu larutan penyerap energi yang bersifat organik, disebut matriks. Identifikasi mikroba oleh MALDI-TOF-MS dilakukan dengan membandingkan *peptida mass fingerprint* (PMF) mikroba yang tidak diketahui terhadap PMF mikroba yang terdapat dalam *database*. Untuk identifikasi tingkat spesies, kisaran massa m/z 2-20 kD yang digunakan dan mengandung terutama protein ribosom, dianggap mewakili sekitar 60-70% berat kering sel mikroba.³

Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) yang dimiliki oleh patogen telah diidentifikasi sebagai biomarker sepsis, contohnya ialah endotoksin pada bakteri Gram negatif virulen. Suatu penelitian menunjukkan bahwa terdapat endotoksin pada lebih dari setengah pasien yang dirawat di *intensive care unit* (ICU) hari pertama perawatan, walaupun hanya sebagian kecil pasien terdokumentasi menderita infeksi bakteri. Terdapat sekitar 10% pasien yang berkembang menjadi sepsis berat, dan kadar endotoksin menjadi faktor

risiko yang bermakna. Salah satu pemeriksaan endotoksin menggunakan *immunoassay*, yaitu sampel darah pasien yang mengandung endotoksin direaksikan dengan antibodi anti-endotoksin, sehingga terbentuk kompleks imun yang akan berinteraksi dengan neutrofil dan menghasilkan *oxidative burst*, untuk selanjutnya diukur menggunakan *chemiluminescence*.¹

Protein Fase Akut C-Reactive Protein (CRP)

Penggunaan CRP sebagai biomarker sepsis pertama kali diidentifikasi pada tahun 1930, yaitu saat Tillet dan Francis menemukan bahwa pada serum pasien pneumonia terdapat protein yang dapat mempresipitasikan fraksi polisakarida (fraksi C) dari *Streptococcus pneumoniae*. Protein ini cepat menurun saat pasien pulih dan tidak ditemukan pada populasi sehat. *C-reactive protein* (CRP) adalah protein fase akut yang dilepaskan oleh sel hati setelah distimulasi oleh mediator inflamasi seperti IL-6. *C-reactive protein* berikatan dengan polisakarida dan peptidopolisakarida yang terdapat pada bakteri, fungi, dan parasit dengan adanya kalsium. Selain itu, CRP dapat juga terikat pada komponen inti sel pejamu yang apoptosis atau nekrosis seperti ribonukleoprotein, sehingga berperan pada pembersihan jaringan.⁴

Konsentrasi CRP serum pada populasi dewasa normal rata-rata ialah 0,8 mg/L (kisaran 0,3-1,7 mg/L) dan <10 mg/L pada 99% sampel normal. Peningkatan konsentrasi mulai terjadi 4-6 jam setelah stimulus, meningkat dua kali lipat setiap 8 jam, dan mencapai puncaknya pada 36-50 jam. Dengan stimulus yang sangat intens, konsentrasi CRP dapat mencapai 500 mg/L atau lebih dari 1000 kali lipat nilai rujukan. Setelah stimulus hilang, CRP menurun dengan cepat karena memiliki waktu paruh 19 jam. Di satu sisi, CRP bisa tetap tinggi bahkan untuk waktu yang lama jika penyebab yang mendasari terus berlanjut.⁵

Peningkatan CRP serum dapat ditemukan pada infeksi. Infeksi bakteri Gram positif dan negatif akut dan sistemik, serta infeksi jamur sistemik menyebabkan CRP

sangat meningkat, bahkan pada pasien yang imunodefisiensi. Konsentrasi CRP cenderung lebih rendah pada infeksi virus akut, meskipun keadaan ini tidak mutlak, karena infeksi dengan adenovirus, campak, dan influenza kadang-kadang dikaitkan dengan CRP yang tinggi. Data CRP pada infeksi parasit masih terbatas, tetapi beberapa penyakit akibat protozoa parasit seperti malaria, *pneumocystosis* dan toksoplasmosis dapat juga menyebabkan peningkatan CRP. Pada infeksi kronis seperti tuberkulosis dan lepra, CRP abnormal namun biasanya hanya sedikit meningkat.⁴

Sensitivitas CRP sebagai biomarker sepsis adalah 68-92% dan spesifisitas 40-67%. Spesifisitas CRP rendah karena meningkat juga pada keadaan inflamasi yang tidak disebabkan oleh infeksi seperti pasca operasi, luka bakar, infark miokard, tumor ganas, dan penyakit reumatik. Keterbatasan ini menyebabkan CRP memiliki peran diagnostik yang rendah. CRP lebih bermanfaat untuk evaluasi sepsis dan prognosis. Konsentrasi CRP telah terbukti berkorelasi dengan tingkat keparahan infeksi. Penurunan cepat konsentrasi CRP dilaporkan berkorelasi dengan respon yang baik terhadap terapi awal antimikroba pada pasien sepsis, sehingga CRP menjadi biomarker yang berguna untuk monitoring respon pengobatan. Sebaliknya, peningkatan CRP pada sepsis dihubungkan dengan peningkatan risiko kegagalan organ dan/atau kematian.⁶

Sejak pertama kali diidentifikasi, kualitas pengukuran CRP telah berkembang dengan pesat. Pada mulanya pengukuran CRP bersifat kualitatif, namun hasil pengukuran tidak bermanfaat dalam membedakan berbagai keadaan penyakit karena hampir semua memberikan hasil positif. Setelah itu, pengukuran semi kuantitatif dengan cara aglutinasi *latex* dikembangkan, tetapi dianggap tidak banyak memberikan manfaat. Setelah pengenalan yang lebih baik akan karakteristik biokimia CRP, dikembangkan antibodi monoklonal spesifik CRP dan beberapa metode imunologi seperti *enzyme immunoassay*, imunoturbidimetri dan nefelometri. Metode nefelometri paling banyak digunakan karena dianggap akurat, stabil, dan presisi.⁵

lometri paling banyak digunakan karena dianggap akurat, stabil, dan presisi.⁵

Prokalsitonin (PCT)

Prokalsitonin adalah protein prekursor hormon kalsitonin (prohormon kalsitonin), tetapi memiliki fungsi biologik dan cara diinduksi yang berbeda dibanding kalsitonin. Prokalsitonin terdiri atas 116 asam amino dengan berat molekul 14,5 kDa dan dikode oleh gen Calc-1 pada lengan pendek kromosom 11. Prokalsitonin terdiri atas tiga komponen, yaitu peptida yang terletak pada ujung amino terminal (*aminoPCT*), peptida yang terletak di tengah dan merupakan kalsitonin imatur, dan peptida ujung karboksi terminal (*calcitonin carboxyl-terminus peptida 1/CCP-1*, disebut juga katakalsin).⁷

Pada keadaan fisiologik, transkripsi gen Calc-1 terbatas pada sel neuroendokrin di kelenjar tiroid dan paru sehingga kadar PCT serum pada individu sehat sangat rendah. Pada keadaan infeksi terutama sepsis, ekspresi gen Calc-1 ditingkatkan dan PCT dilepaskan oleh hampir semua jaringan tubuh. Pada infeksi bakteri, kombinasi produk mikroba dan sitokin proinflamasi IL-1 β , TNF- α , dan IL-6 menyebabkan peningkatan ekspresi PCT. Menariknya, induksi PCT dapat dilemahkan oleh IFN- γ yang berperan penting pada pertahanan awal pejamu terhadap virus, akibatnya konsentrasi PCT serum dapat digunakan untuk membedakan infeksi bakteri dan infeksi virus.⁸

Konsentrasi PCT pada orang sehat sangat rendah (<0,05 ng/mL). Jika ada stimulus, konsentrasi PCT mulai meningkat dalam waktu 4 jam setelah stimulus, mencapai puncaknya pada 6 jam dan bertahan pada 8-24 jam. Dibandingkan dengan biomarker inflamasi lain, PCT mencapai puncak setelah peningkatan TNF- α (90 menit) dan IL-6 (3 jam). Selain itu, TNF- α kembali ke baseline setelah 6 jam dan IL-6 8 jam, menyebabkan rentang waktu pengujian kedua sitokin ini sangat sempit dalam penggunaannya.⁷

Konsentrasi PCT >0,5 ng/mL diinterpretasikan sebagai abnormal dan dianggap

sebagai tersangka sindrom sepsis. Konsentrasi 0,5-2 ng/mL merupakan “daerah abu-abu” dan dianjurkan untuk mengulang pemeriksaan setelah 6-24 jam sampai diagnosis spesifik teridentifikasi. Konsentrasi >2 ng/mL diduga kuat adanya proses infeksi dengan dampak sistemik. Konsentrasi >10 ng/mL sering ditemukan pada pasien dengan sepsis berat atau syok septik.⁹

Terdapat keterbatasan pemeriksaan PCT, yaitu peningkatan PCT dapat terjadi tanpa adanya infeksi bakteri, yaitu pada trauma berat, operasi, pasca syok kardiak, stres partus pada neonatus, syok suhu panas, *acute graft-versus-host disease*, imunoterapi (seperti transfusi granulosit, antibodi anti-CD3, terapi alemtzumab, IL-2, atau TNF- α), penyakit autoimun (seperti penyakit Kawasaki dan beberapa tipe vaskulitis), dan sindrom paraneoplastik.¹

Beberapa penelitian membandingkan manfaat diagnosis PCT dengan CRP, tetapi masih diperdebatkan bahwa PCT lebih sensitif dan spesifik dalam diagnosis sepsis. Hal ini disebabkan adanya perbedaan, seperti pada populasi pasien dan nilai *cut-off* yang digunakan. Suatu penelitian meta-analisis terhadap 49 publikasi yang membandingkan PCT dan CRP dilakukan oleh Uzzan et al. mendapatkan bahwa PCT dan CRP sama baiknya sebagai biomarker sepsis, meskipun rasio *odds* (OR) PCT (14,69) lebih tinggi dibandingkan CRP (5,43).²

Pemeriksaan PCT berupa tes kuantitatif dan kualitatif, menggunakan teknik imunologi seperti *enzyme immunoassay* atau *immunofluorescence*. Tes komersial yang tersedia saat ini umumnya menggunakan antibodi anti-kalsitonin atau antibodi anti-katakalsin. Sampel yang digunakan bisa berupa serum atau plasma (EDTA atau heparin). Karena PCT merupakan protein yang stabil di dalam darah, penyimpanan pada suhu ruangan selama 24 jam konsentrasi PCT masih dapat dipertahankan >80% dan bila disimpan pada suhu 4°C konsentrasi dapat dipertahankan >90%.⁷

Hipoperfusi Jaringan

Sepsis dapat berkembang menjadi syok

septik yang sering dikaitkan dengan disfungsi peredaran darah, hipotensi arteri, dan penurunan aliran oksigen dan nutrisi ke jaringan perifer. Konsentrasi laktat menjadi biomarker yang berguna untuk disfungsi organ dan juga berfungsi sebagai titik akhir untuk resusitasi pada pasien dengan sepsis dan syok septik. Saat konsensus internasional Sepsis-3, konsentrasi laktat dimasukkan dalam mendefinisikan pasien dengan syok septik. Kriteria konsentrasi laktat diverifikasi oleh Sepsis-3 berdasarkan review sistematis dari 44 studi (total 166.479 pasien memenuhi kriteria inklusi dan meninggal karena syok septik) di berbagai belahan dunia.¹⁰

Nilai diagnostik dan prognostik laktat pada pasien sepsis telah terdokumentasi dengan baik dalam menilai pasien di unit gawat darurat, unit perawatan intensif, atau pada pasien trauma. Konsentrasi laktat yang tinggi sangat terkait dengan hasil buruk dan kematian yang tinggi.¹⁰ Penelitian Shapiro et al.¹¹ pada 1278 pasien dengan infeksi yang masuk unit gawat darurat, membagi risiko kematian pasien berdasarkan konsentrasi laktat menjadi tiga bagian, yaitu laktat 0-2,4 mmol/L (=0-21 mg/dL) kematian dalam 28 hari \pm 4,9% (3,5-6,3%), laktat 2,5-3,9 mmol/L (=22-35 mg/dL) kematian menjadi \pm 9,0% (5,6-12,4%), dan laktat \geq 4 mmol/L (\geq 36mg/dL) menjadi \pm 28,4% (21-36%).

Meskipun demikian, masih tetap terdapat kontroversi terkait keterbatasan menggunakan peningkatan konsentrasi laktat sebagai biomarker diagnostik dan prognostik. Konsentrasi laktat yang tinggi dapat ditemukan juga dalam berbagai kondisi, seperti serangan jantung, trauma, kejang, atau aktivitas otot yang berlebihan. Karena itu, peningkatan konsentrasi laktat saja tidak dianggap spesifik, dan harus ditambah dengan gambaran klinis secara keseluruhan. Selain itu, laktat mungkin juga tidak terlalu sensitif. Pada umumnya, konsentrasi laktat yang normal sering diartikan menunjukkan prognosis yang baik bagi pasien sepsis, tapi beberapa studi menunjukkan hal sebaliknya.¹² Salah satu contoh ialah penelitian Dugas et al.¹³ yang men-

dapatkan bahwa 45% pasien syok septik yang tergantung vasopressor tidak memiliki konsentrasi laktat $>2,4$ mmol/L pada awalnya, tetapi tingkat kematian pasien tetap tinggi. Alasan beberapa pasien mengalami peningkatan konsentrasi laktat dibandingkan dengan pasien lain masih belum jelas.

Pengukuran laktat serial berguna dalam monitoring efektivitas pengobatan pasien sepsis dan syok septik terhadap berbagai intervensi terapeutik. Pemantauan bersihan laktat melalui pengukuran serial telah terbukti menjadi prediktor yang berguna untuk morbiditas dan mortalitas. Pasien dengan penurunan konsentrasi laktat yang awalnya tinggi dalam waktu 24 jam, secara signifikan memiliki hasil lebih baik dibandingkan pasien dengan laktat yang tetap tinggi.¹²

Mediator Koagulasi

Salah satu faktor utama kerusakan vaskular yang berhubungan dengan kematian melibatkan sistem koagulasi. Ketika sistem imun bawaan dirangsang, kaskade koagulasi juga akan dimulai sebagai respon terhadap cedera. Konsumsi faktor-faktor pembekuan dan trombosit, ditambah dengan inhibisi sistem fibrinolisis, menghasilkan deposisi fibrin mikrovaskular yang berkontribusi terhadap disfungsi organ. Berbagai uji klinis terkait dengan koagulasi dan fibrinolisis telah digunakan untuk memantau kelainan hemostasis yang terkait sepsis.² Patogenesis yang terlibat dalam interaksi antara koagulasi dan fibrinolisis sangat kompleks, dan diketahui terdapat perubahan faktor-faktor yang terkait koagulasi. Jumlah trombosit, antitrombin III, protein C dan S, waktu tromboplastin parsial teraktivasi (*activated partial thromboplastin time/aPTT*), waktu protrombin (*prothrombine time/PT*), D-dimer, fibrin, PAI, dan trombomodulin merupakan marker yang tepat untuk mengukur tingkat keparahan respons pejamu dan memiliki implikasi prognostik. Konsentrasi serum protein C pada pasien neutropenia menurun secara signifikan sebelum tanda klinis sepsis berat dan syok septik tampak jelas.¹

Persentase DIC terdapat dalam jumlah

yang signifikan pada pasien dengan sepsis. *Disseminated intravascular coagulation* didiagnosis pada kira-kira 35% dari semua pasien dengan sepsis berat, dan keparahan DIC secara langsung berkorelasi dengan mortalitas. Mortalitas diperkirakan menjadi 40% pada pasien sepsis dengan DIC, dibandingkan dengan 27% pada pasien sepsis tanpa DIC. Selain itu, DIC terkait dengan sepsis memiliki angka kematian lebih tinggi daripada DIC yang berhubungan dengan trauma.¹⁴ Diagnosis DIC menggunakan sebuah sistem penilaian yang diusulkan oleh *International Society on Thrombosis and Hemostasis*, yaitu meliputi jumlah trombosit, PT, konsentrasi fibrinogen, dan D-dimer. Skor DIC menggunakan D-dimer mampu memprediksi keparahan dan kelangsungan sepsis.²

Biomarker terjadinya peningkatan koagulasi ialah meningkatnya TF. Biomarker terjadinya penurunan antikoagulasi adalah penurunan ekspresi trombomodulin dan EPCR, penurunan sekresi protein C dan S, serta peningkatan konsentrasi trombomodulin dan EPCR solubel di plasma. Biomarker penekanan fibrinolisis adalah meningkatnya PAI-1 dan peningkatan aktivitas *thrombin activatable fibrinolytic inhibitor* (TAFI).¹⁵ Kelemahan parameter koagulasi sebagai biomarker sepsis adalah DIC dapat dipicu oleh keadaan lain seperti trauma, kelainan obstetri, atau kanker, oleh karena itu parameter koagulasi tidaklah digunakan untuk menetapkan diagnosis sepsis, melainkan lebih untuk evaluasi efek antikoagulan dan prognosis.¹

Permukaan Sel

Cluster of Differentiation 64 (CD64)

Salah satu efek peningkatan pelepasan sitokin pro-inflamasi terutama IL-6 ialah peningkatan produksi dan aktivasi sel polimorfonuklear (PMN), sehingga terjadi perubahan morfologik seperti granulasi toksik dan badan Dohle. Granulasi toksik menggambarkan peningkatan konsentrasi senyawa antimikrobal pada granula primer, dan badan Dohle adalah agregasi retikulum endoplasma. Aktivasi PMN

dapat dideteksi dengan analisis ekspresi molekul diferensiasi sel pada permukaan PMN menggunakan *flow cytometry*.²

Saat terjadi respon inflamasi, PMN yang bersirkulasi terikat pada sel endotel dan mengekspresikan CD64 sebagai reseptor dengan afinitas tinggi terhadap IgG (FcγRI). Peningkatan ekspresi CD64 pada permukaan PMN dan monosit dianggap sebagai tahap awal respon pejamu terhadap infeksi bakteri. Pada keadaan tidak teraktivasi, PMN memiliki CD64 yang sangat rendah pada permukaan membrannya, sekitar 1000 molekul/sel. Ekspresi CD64 meningkat pada aktivasi PMN oleh sitokin pro-inflamasi dalam waktu 4-6 jam dan dapat mencapai tingkat >10 kali lipat lebih tinggi daripada saat kondisi tidak teraktivasi.¹⁶ Persentase PMN yang mengekspresikan CD64 lebih tinggi pada pasien SIRS dibandingkan pasien non-SIRS dan berkorelasi dengan perkembangan sepsis menjadi sepsis berat. Penelitian prospektif pada 700 bayi yang dirawat di ICU neonatus menunjukkan ekspresi CD64 sebagai biomarker sepsis dengan sensitivitas 75% dan spesifisitas 77% terhadap nilai *cut-off* optimal. Indeks CD64, dihitung dari rasio intensitas fluoresen rata-rata populasi PMN yang mengekspresikan CD64 terhadap intensitas *bead* kalibrasi, ditemukan bermanfaat untuk deteksi awal sepsis pada neonatus dengan penyakit kritis. Penelitian lain terhadap pasien ICU, indeks CD64 digunakan sebagai biomarker tambahan dengan sensitivitas 84,4% dan spesifisitas 95,2%.^{1,2}

Human Leukocyte Antigen-DR (HLA-DR)

Pemeriksaan ekspresi HLA-DR ialah salah satu pemeriksaan yang menandakan terjadinya immunosupresi. Ekspresi HLA-DR yang rendah mampu memprediksi prognosis yang buruk dan meningkatnya risiko infeksi nosokomial. Penelitian klinis menitikberatkan pada ekspresi HLA-DR monosit yang secara bermakna tertekan pada pasien sepsis tetapi kembali normal dalam waktu 10 hari pada pasien yang bertahan hidup. Transisi menuju sepsis berat dilihat bukan dari hilangnya ekspresi HLA-DR

tetapi dari kegagalan kembali ke normal.²

Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 1 (TREM-1) dan Soluble TREM-1 (sTREM-1)

Biomarker aktivasi neutrofil TREM-1 merupakan bagian dari keluarga besar imunoglobulin yang ekspresinya meningkat saat distimulasi LPS. Penelitian menunjukkan ekspresi TREM-1 sangat meningkat di kultur sel cairan lavase peritoneal dan sampel jaringan dari pasien yang terinfeksi bakteri atau jamur, tetapi tidak pada pasien inflamasi non-infeksi. Ekspresi TREM-1 berhubungan dengan pelepasan *soluble* TREM-1 (sTREM-1). Asal sTREM-1 kemungkinan akibat pemecahan proteolitik TREM-1 membran atau dari *splicing* alternatif mRNA TREM-1. Suatu meta analisis menunjukkan sTREM-1 mempunyai sensitivitas 82% dan spesifisitas 86%, tetapi aplikasi klinis sTREM-1 sebagai biomarker diagnostik dan prognostik masih membutuhkan penelitian lanjut.^{1,2}

Soluble Cluster of Differentiation 14 Subtype (sCD14-ST)

Cluster of Differentiation 14 adalah glikoprotein permukaan sel yang diekspresikan oleh monosit, makrofag, dan neutrofil, dan berperan sebagai reseptor dengan afinitas tinggi terhadap kompleks LBP-LPS. Terdapat dua tipe CD14, yaitu *membrane* CD14 (mCD14) yang melekat pada *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) membran sel dan *soluble* CD14 (sCD14) yang larut dalam plasma. Molekul CD14 diekspresikan di permukaan sel sebagai protein membran 55 kDa dan tersusun oleh 356 residu asam amino, sedangkan sCD14 selain dilepaskan dari leukosit juga diproduksi oleh hepatosit. Bentuk sCD14 yang terpotong pada daerah N-terminal disebut sebagai presepsin (sCD14-ST) dan terdiri atas 64 residu asam amino dengan berat molekul 13 kDa.¹⁷

Penelitian metaanalisis Wu et al.¹⁸ pada pasien sepsis, menyimpulkan bahwa presepsin menjadi biomarker diagnosis dini sepsis yang bermanfaat dengan sensitivitas 76-80% dan spesifisitas 80-85%. Penelitian

Shozushima et al.¹⁹ menemukan perbedaan bermakna konsentrasi presepsin pada beberapa keadaan, yaitu kelompok kontrol normal $294,2 \pm 121,4$ pg/ml, infeksi lokal $721 \pm 611,3$ pg/ml, SIRS $333,5 \pm 130,6$ pg/ml, sepsis $817,9 \pm 572,7$ pg/ml, dan sepsis berat $1.992,9 \pm 1509,2$ pg/mL dan menyimpulkan presepsin lebih baik dibandingkan PCT dalam menegakkan diagnosis sepsis, dengan *cut-off* 415 pg/mL memberikan sensitivitas 80,1% dan spesifisitas 81%, serta *area under the curve* (AUC) lebih tinggi daripada PCT dan IL-6. Penelitian Carpio et al.¹⁷ menilai presepsin sebagai biomarker prognosis sepsis dan mendapatkan konsentrasi presepsin secara bermakna lebih tinggi pada kelompok yang tidak bertahan hidup selama pemantauan 30 hari (median >1700 pg/mL) dibandingkan kelompok yang bertahan hidup (median <600 pg/mL).

Sitokin

Sitokin merupakan protein yang disekresi oleh sel-sel pada sistem imun tubuh sebagai respon terhadap mikroba atau antigen lainnya. Sitokin pro-inflamasi utama yang mengatur respon imun awal meliputi IL-1 β , TNF- α , IL-6, dan IL-8, sedangkan sitokin anti-inflamasi terutama adalah IL-10.²⁰

Interleukin-1 β , dikenal juga sebagai *catabolin*, adalah anggota keluarga sitokin interleukin-1. Sitokin IL-1 β dihasilkan terutama oleh makrofag, selain itu oleh neutrofil, sel epitel, dan sel endotel, dan diinduksi oleh produk bakteri seperti LPS. Fungsi utama IL-1 β berupa mediator respon inflamasi dan tergantung pada jumlah IL-1 β yang dihasilkan. Pada konsentrasi rendah, IL-1 β berfungsi sebagai mediator inflamasi lokal, yaitu bekerja pada sel endotel untuk meningkatkan ekspresi molekul permukaan yang menyebabkan adhesi leukosit. Pada konsentrasi tinggi, bersamaan dengan TNF- α , memberikan efek endokrin dengan menyebabkan demam dan menginduksi sintesis protein fase akut oleh hati.²⁰

Sitokin TNF- α , disebut juga *cachectin*, merupakan mediator kunci pada respon

inflamasi akut terhadap bakteri, dan bertanggung jawab terhadap komplikasi sistemik infeksi berat. *Tumor necrosis factor- α* terutama diproduksi oleh makrofag dan sel dendritik, dan distimulasi oleh PAMPs dan DAMPs, TLRs, NLRs, dan RLRs. Fungsi utama TNF- α ialah merekrut neutrofil dan monosit ke tempat infeksi dan mengaktifkan sel-sel tersebut untuk mengeliminasi bakteri. Selanjutnya TNF- α merangsang leukosit untuk melepaskan sitokin lain dan merangsang sel endotel untuk mengekspresikan molekul permukaan sehingga meningkatkan adhesi neutrofil-endotel pada tempat infeksi. Terjadinya syok septik dimediasi terutama oleh TNF- α , dan tingginya konsentrasi TNF- α berhubungan dengan prognosis jelek pasien dengan sepsis.²⁰ Pada penelitian menggunakan hewan coba, pemberian TNF- α menyebabkan demam, asidosis laktat, DIC, edema pulmoner, dan kematian. Manifestasi kardiovaskular pada hewan percobaan tersebut sama dengan terjadinya syok septik pada manusia, yaitu hipotensi, peningkatan curah jantung, dan penurunan resistensi vaskular sistemik.²¹

Interleukin-6 disintesis oleh fagosit mononuklear, sel endotel, fibroblast, dan beberapa sel T yang teraktivasi sebagai respon terhadap PAMPs, IL-1, dan TNF- α . Fungsi IL-6 ialah menstimulasi sintesis protein fase akut oleh hati, produksi neutrofil dari sumsum tulang, dan diferensiasi sel T helper subset T_H17.²⁰

Interleukin-8 dihasilkan oleh fagosit mononuklear dan sel endotel, dan memiliki efek pro-inflamasi, aktifitas kemoatraktan, dan mampu mengaktifkan neutrofil.²⁰ Konsentrasi IL-6 dan IL-8 yang tinggi di serum, berhubungan dengan prognosis jelek pada pasien sepsis. Selain itu, konsentrasi tinggi dapat diinduksi oleh bedah mayor, trauma berat, penyakit autoimun eksaserbasi akut, infeksi virus, dan setelah penolakan transplan. Pada neonatus, peningkatan konsentrasi IL-6 dan IL-8 dapat memprediksi terjadinya sepsis neonatorum awitan dini, dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.²⁰

Interleukin-10 diproduksi oleh limfo-

sit, monosit, dan makrofag. Sintesis IL-10 distimulasi oleh sitokin pro-inflamasi, termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6, dan IL-12. Interleukin-10 menghambat produksi sitokin pro-inflamasi oleh sel mononuklear teraktivasi dan menghambat ekspresi molekul *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II pada makrofag dan sel dendritik. Beberapa penelitian terhadap pasien dengan syok septik, mengonfirmasi bahwa sekresi IL-10 bersamaan dengan TNF- α dan IL-6 berkorelasi terhadap beratnya inflamasi dan perkembangan disfungsi organ.²¹

Pemeriksaan sitokin yang banyak dilakukan yaitu menggunakan teknik imunisasi. *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) adalah metode pengukuran sitokin yang banyak digunakan. Kelemahan ELISA salah satunya ialah hanya dapat mengukur satu sitokin pada sampel. Saat ini telah dikembangkan teknik *multiplex arrays* yang mampu mengukur banyak sitokin dalam satu sampel, dan meliputi pemeriksaan dengan menggunakan *flow cytometry*, *chemiluminescence*, atau *electrochemiluminescence*.²²

SIMPULAN

Patogenesis dan patofisiologi sepsis yang kompleks membuat banyak senyawa dapat dijadikan sebagai biomarker sepsis dan syok septik. Beberapa biomarker yang banyak digunakan terbagi dalam kelompok produk bakteri, protein fase akut, hipoperfusi jaringan, mediator koagulasi, permukaan sel, dan sitokin. Penggunaan biomarker tunggal tidak dapat memberikan cukup informasi bagi klinisi, sehingga pemilihan biomarker sepsis dan syok septik dalam bentuk kombinasi atau panel merupakan langkah yang ideal, dengan tetap mempertimbangkan ketersediaan jenis pemeriksaan tersebut di sarana kesehatan yang ada.

DAFTAR PUSTAKA

1. Reinhardt K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(4):609-34.

2. Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab.* 2013;50(1):23-36.
3. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry : an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015;6:1-16.
4. Peisajovich A, Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein at the interface between innate immunity and inflammation. *Expert Rev Clin Immunol.* 2008;4(3):379-90.
5. Povoia P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Med.* 2002; 28:235-43.
6. Sung-Yeon C, Jung-Hyun C. Biomarkers of sepsis. *Infect Chemother.* 2014;46(1):1-12.
7. Schneider HG, Lam QT. Procalcitonin for the clinical laboratory: a review. *Pathology.* 2007;39(4):383-90.
8. Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2012;73:221-7.
9. Pugin J, Meisner M, Leon A, Gendrel D, Lopez AF. Guide for the clinical use of PCT in diagnosis and monitoring of sepsis. *Brahms.* 2004;1:1-24.
10. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315:801-10.
11. Shapiro NI, Howell MD, Talmor D, Nathanson LA, Lisbon A, Wolfe RE, et al. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection. *Ann Emerg Med.* 2005;45:524-8.
12. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(10):1127-40.
13. Dugas AF, Mackenhauer J, Saliccioli JD, Cocchi MN, Gautam S, Donnino MW. Prevalence and characteristics of nonlactate and lactate expressors in septic shock. *J Crit Care.* 2012;27:344-50.
14. Hook KM, Abrams CS. The loss of homeostasis in hemostasis: new approaches in treating and understanding acute disseminated intravascular coagulation in critically ill patients. *Clin Transl Sci.*

- 2012;5:85-92.
15. **Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M.** Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thromb Res.* 2011;129:290-5.
 16. **Hoffmann JJ.** Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochem Med.* 2011; 21(3):282-90.
 17. **Carpio R, Zapata J, Spanuth E, Hess G.** Utility of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta.* 2015;450:169-75
 18. **Wu J, Hu L, Zhang G, Wu F, He T.** Accuracy of presepsin in sepsis diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Plos One.* 2015;10(7):1-15.
 19. **Shozushima T, Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y, Endo S.** Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Chemother.* 2011;17:764-9.
 20. **Innate immunity.** In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. *Cellular and Molecular Immunology* (7th ed). Philadelphia: Elsevier, 2012; p. 51-86.
 21. **Zanotti, S, Kumar A, Kumar A.** Cytokine modulation in sepsis and septic shock. *Expert Opin Investig Drugs.* 2002; 11(8):1061-75.
 22. **Zhou X, Fragala MS, McElhaney JE, Kunchel GA.** Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurement in clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2010; 13(5):541-7.