

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

Selama penelitian bulan Januari–Juni 2011 terdapat 20 subjek yang memenuhi kriteria penelitian, 65% di antaranya laki-laki, dengan rentang umur 6-156 bulan, dengan 75% gizi baik, 25% gizi kurang, dan 10% gizi buruk, 4 orang meninggal karena sepsis dan 1 orang meninggal karena perdarahan otak sebagai komplikasi trombositopenia berat. Jumlah penderita meninggal selama periode penelitian ini adalah 5 orang (25%) jauh lebih tinggi daripada penelitian Basu yang hanya 10%. Perbedaan angka mortalitas dengan penelitian Basu, kemungkinan perbedaan epidemiologi, protokol terapi, dll, namun hal ini memerlukan penelitian jangka panjang dan multisenter.<sup>41</sup>

Kultur darah merupakan baku emas adanya bakteremia, dengan syarat pengambilan subjek dilakukan dengan baik, misalnya jumlah subjek darah yang cukup, dan dilakukan dekontaminasi untuk menghindari positif palsu akibat bakteri komensal di kulit. Munculnya kuman juga dipengaruhi kadar kuman dan klinis pasien. Hasil positif pada kultur selain karena kontaminasi, juga sebagai hasil transien atau hambatan munculnya kuman dalam darah.<sup>42</sup> Fokus infeksi bisa menyebarkan kuman ke dalam darah secara periodik dan bisa membuat negatif palsu, selain adanya pemberian antimikroba sebelumnya (dalam penelitian ini, masuk kriteria eksklusi jika subjek diberi antibiotika sebelumnya). Hasil penelitian didapat kultur steril pada 8 (40%) subjek, berbeda dengan penelitian Rena di RS Sanglah Denpasar yang

mendapat hasil kultur steril 56,3%,<sup>43</sup> hal ini mungkin disebabkan kemungkinan penyebab infeksi berasal dari jamur/virus.

Pasien terbanyak yang dirawat adalah ALL (95%) dan sisanya AML, hampir sama dengan epidemiologi leukemia akut di Asia, yakni ALL 82%, dan AML 18%.<sup>2</sup>

### **6.1 IL-8 pada bakteremia/sepsis bakteri gram -**

Bakteri gram - menyerang organisme dengan endotoksin, berupa LPS pada membran luarnya, dikeluarkan saat lisis atau penggandaan bakteri, dengan komponen toksik berupa lipid A (suatu susunan kompleks residu-residu lipid). Umumnya toksisitas endotoksin lebih rendah daripada eksotoksin yang berupa polipeptida, namun beberapa organisme justru sebaliknya, bahkan bisa menimbulkan syok septik. Efek endotoksin secara biologis berupa demam karena pelepasan makrofag oleh IL-1, dan memacu pirogen endogen, hipotensi karena meningkatnya permeabilitas pembuluh darah, aktivasi jalur komplemen C<sub>3</sub> yang mengakibatkan peradangan dan kerusakan jaringan, serta aktivasi makrofag, peningkatan kemampuan fagosit, dan aktivasi dari banyak klon limfosit B sehingga meningkatkan produksi antibodi, termasuk stimulasi pembentukan sel granulosit, penggumpalan dan degenerasi trombosit. LPS, yang terikat CD<sub>14</sub> pada monosit dan makrofag menyebabkan produksi TNF $\alpha$  yang akan selanjutnya memproduksi IL-8 dan kaskade inflamasi lainnya dengan opsonisasi, anafilatoksin dll. LPS yang terikat LBP mengaktivasi CD<sub>14</sub> melalui *Toll signaling pathway* yaitu TLR 4; berbeda dengan peptidoglikan bakteri gram + (via TLR2). Selanjutnya CD<sub>14</sub> interaksi dengan TLR-4 menghasilkan aktivasi NF $\kappa$ B dalam nukleus yang akan mengkode gen yang memproduksi protein

untuk melawan infeksi. Sel dendritik yang diaktivasi via TLR4 dan sel T antigen spesifik juga akan teraktivasi dan berdiferensiasi yang akan menimbulkan respon imun lebih hebat daripada bakteri gram +.<sup>7,45-47</sup>

Hasil penelitian median kadar IL-8 pada infeksi bakteri gram – adalah 2.044,75 (795-2.088) pg/ml, dengan rincian *Acinetobacter* (kadar IL-8: 2.028 dan 2.055 pg/ml), *P.aeruginosa* (2.088 pg/ml), *E.aerogenes* (2.049 pg/ml), *K.pneumoniae* (2.040 pg/ml) dan *E.coli* (795 pg/ml). Kadar IL-8 dari penelitian ini lebih tinggi daripada penelitian Lehrnbecher: 500 pg/ml<sup>8</sup>, dan penelitian de Bont<sup>9</sup> yaitu 1.584 pg/ml, namun lebih rendah daripada penelitian Kern<sup>29</sup>: 2.353 pg/ml. Pada *E.coli*, yaitu 795,82 pg/ml cukup jauh dari jenis kuman gram - lain (> 2.000 pg/ml), namun hasil ini masih jauh lebih tinggi daripada penelitian Aalto<sup>7</sup>: 50,8 pg/ml, Huang<sup>36</sup> 100 pg/ml. Penyebab mencolok pada spesies *E.coli* dengan kuman gram - lain belum diketahui pasti, karena secara teoritik adanya komponen LPS (juga merupakan komponen dinding sel *E.coli*) akan menimbulkan reaksi inflamasi yang hebat.

Perbedaan ini sering disebabkan faktor alat dan teknik serta variasi genetik berupa polimorfisme gen IL-A A-251T promoter bisa mempengaruhi perbedaan produksi IL-8, namun hal ini masih perlu diteliti lebih lanjut.<sup>33-34</sup>

## **6.2 IL-8 pada bakteremia/sepsis bakteri gram +**

Struktur bakteri gram + dindingnya mengandung peptidoglikan dan asam lipoteikoat, akan terikat TLR-2 (berbeda dengan LPS yang terikat pada TLR-4) dan muramil dipeptida akan mengikat Nod2, untuk pengenalan bakteri intraselular.

Eksotoksin yang dikeluarkan menyebabkan pelepasan sitokin dari T *helper* dan makrofag yang dapat menginduksi demam. Dibandingkan endotoksin, peptidoglikan, asam lipoprotein, dan pro albumin pada bakteri gram+ lebih kurang aktif, karena tidak menstimulasi IFN $\gamma$  dan TNF  $\alpha$ , hal ini menerangkan perbedaan inflamasi antara infeksi bakteri gram + dan -.<sup>7,35,47,48</sup>

Median kadar IL-8 pada bakteremia gram + pada 6 subjek adalah 244,20 (148,88-362,98) pg/ml, dengan rincian sebagai berikut: *Streptococcus pneumoniae* (362,98 pg/ml), *Staphylococcus aureus* (214,46 dan 298,24 pg/ml), *Staphylococcus epidermidis* (148,88, 156,93, dan 273,97 pg/ml). Hasil ini lebih rendah daripada penelitian Lehmbecher<sup>8</sup>: 320 pg/ml, dan Hack<sup>27</sup>: 379 pg/ml, namun lebih tinggi dari penelitian de Bont<sup>9</sup>:146 pg/ml. Perbedaan ini mungkin akibat perbedaan geografis, epidemiologi, ras yang terkait genetik.

*Staphylococcus epidermidis* (termasuk dalam kelompok *Staphylococcus* koagulase negatif) sering ditemukan sebagai flora normal kulit, dan sering membingungkan apakah merupakan kontaminan atau merupakan bakteri tersebut invasif karena imunokompromais. Dari kepustakaan belum ada petanda spesifik untuk membedakan apakah merupakan komensal (hasil kultur darah terkontaminasi flora normal kulit) atau infeksi invasif yang nyata. Virulensi bakteri ini tergantung genetik dan pembentukan lapisan biofilm (lapisan luar yang terdiri dari protein dan polisakarida), terutama pada pasien dengan pemakaian kateter intravena. Dari penelitian didapat 3 (15%) hasil kultur darah *S.epidermidis*, hampir sama dengan penelitian Rena di RSUP Sanglah Denpasar sebesar 11,1%. *Staphylococcus*

koagulase negatif sering ditemukan pada penderita keganasan hematologi yang mengalami infeksi.<sup>43</sup> Salah satu faktor yang menyebabkan pergeseran pola kuman dari gram - ke gram + adalah kerusakan barier mukosa akibat kemoterapi agresif yang memudahkan invasi bakteri gram + di rongga mulut dan saluran cerna. Hasil pemeriksaan kadar IL-8 pada hasil kultur *S.epidermidis*, rerata: 193,6 pg/ml (rentang 148,88-273,97 pg/ml), sama dengan pada penelitian de Bont<sup>9</sup> menyebutkan kadar IL-8 pada *Staphylococcus* koagulase negatif (termasuk *S.epidermidis*) 191 pg/ml. Belum ada marker spesifik yang membedakan apakah bakteri tersebut kontaminan atau invasif<sup>47</sup>, dan untuk membedakannya harus dinilai klinis pasien adanya tanda-tanda SIRS, atau dilakukan kultur darah serial. Jika hasil kultur darah serial sama dengan sebelumnya, maka dapat dibuktikan bukan kontaminan. Semua subjek dengan hasil kultur *S.epidermidis* menunjukkan tanda SIRS, sehingga kasus ini *S.epidermidis* sebagai kuman invasif.

### **6.3 IL-8 pada Hasil Kultur darah Positif dan Negatif**

Hasil penelitian menunjukkan 60% hasil kultur positif, berbeda dengan penelitian Hirao<sup>28</sup>:19% subjek, dan Setiati<sup>2</sup>: 30% positif pada sindroma sepsis. Untuk mengurangi kemungkinan positif atau negatif palsu, pengambilan sampel darah subjek sudah dilakukan secara baik, diambil sebelum pemberian antibiotika, jumlah cukup, dan memakai teknik aseptik/antiseptik yang benar. Volume darah yang diambil untuk kultur darah minimal 2,5 cc pada anak < 5 tahun dan minimal 3 cc pada anak > 5 tahun, segera dimasukkan media Bactec untuk bakteri, dan pada jam kerja dikirim ke laboratorium mikrobiologi sekaligus dengan pengecatan gram

sebagai penapisan awal ada/tidaknya bakteremia. Subjek yang mendapat antibiotika kurang dari 7 hari sebelum pemberian antibiotika dimasukkan kriteria eksklusi untuk mengurangi efek pasca antibiotika yang berpengaruh pada hasil kultur dan kadar IL-8. Perbedaan prevalensi dengan peneliti sebelumnya, selain karena faktor-faktor di atas, masih bisa diakibatkan karena perbedaan epidemiologi.

Limit kadar IL-8 pada orang sehat bervariasi, disebutkan dalam tabel 12. Hasil penelitian menunjukkan, median kadar IL-8 pada kultur steril adalah 67,65 (8,9-111,88) pg/ml, sedangkan pada nonsteril 579,40 (148,88 – 2.088) pg/ml.

### **6.5 Pengaruh status gizi terhadap kadar IL-8**

Belum ada penelitian yang menyebutkan pengaruh status gizi pada kadar IL-8, walaupun secara teoritik respon imun (makrofag, neutrofil) pada gizi buruk menurun, namun karena IL-8 juga sebagian besar diproduksi sel endotel vaskular selain neutrofil dan makrofag, maka status gizi kurang berpengaruh. Penelitian Asturias EJ menyebutkan tak ada hubungan bermakna antara kultur darah dan malnutrisi ( $p=0,58$ , *Odds ratio* 0,16-9,2), dan tak meneliti IL-8.<sup>49</sup> Variasi genetik diduga memegang peran dalam perbedaan respon produksi dan sekresi IL-8 pada tiap individu.<sup>20</sup> Hasil penelitian kami, pada semua ( $n=2$ ) pasien gizi buruk menunjukkan hasil kultur darah negatif dengan hasil IL-8 yang rendah (8,9 dan 72,96 pg/ml), tanpa tanda-tanda SIRS.

### **6.5 Keterbatasan Penelitian:**

1. Tidak dilakukan kultur jamur. Produk jamur baik yang mati atau hidup memproduksi pirogen eksogen yang akan merangsang demam. Hasil

penelitian Aalto jika ada infeksi jamur, maka akan meningkatkan kadar IL-8, namun di bawah infeksi bakteri gram + dan -.<sup>7</sup>

2. Karena subjek merupakan usia anak, pengambilan subjek darah hanya satu kali (sekali jadi), yang mana hal tersebut bisa menimbulkan hasil kultur negatif palsu.
3. Jumlah subjek terlalu sedikit untuk mencari kurva nilai *cutoff* dan kurva ROC.