

## Balans Cairan, Interferon-Gamma, Interleukin-12 dan Tumor Necrosis Factor Sebagai Faktor Prediksi Kesembuhan pada Sepsis Berat

### *Fluid Balance, Interferon-Gamma, Interleukin- 12 and Tumor Necrosis as predictive factors of Survival in Severe Sepsis*

Djoko Trihadi Lukmono Subagyo<sup>1\*</sup>

#### ABSTRACT

**Background:** The cardiovascular derangements of severe sepsis in human include arteriolar, venular dilation, capillary leak, and immunomodulatory response. Intravascular volume replacement during resuscitation most frequently converts the circulation to a high-output hypotensive state. We hypothesized that patients with severe sepsis had any predicting factors to survive than those who do not.

**Design and Method:** Randomized Clinical Trials were conducted of 110 patients suffered from severe sepsis in ICU/HCU. Admission APACHE II, SOFA scores, IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , and fluid balance were computed from the extracted data. Patients allowed to severe sepsis treatment according with the International Consensus Committee. Summary estimates using both the Mantel-Haenszel test and precision based approaches were computed for statistical analysis.

**Result:** Of 110 patients ranged in age from 46 to 71 years with a mean ( $\pm$  SE) age of  $63.45 \pm 3.97$  years. The mean admission APACHE II score was  $25.96 \pm 3.65$ ; and the day 1 SOFA score was  $9.57 \pm 1.24$ . Twenty one patients did not survive, Non-survival had higher mean APACHE II than survivals (29.85 vs 20.46), respectively ( $p < 0.01$ ). Higher first day IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , and SOFA scores ( $p < 0.01$ ). Whereas 26 patients who achieved a negative fluid balance of  $> 500$  mL on  $>$  of the first 3 days of treatment survived (RR 5.0; 95% CI : 2.3 to 10.7,  $p < 0.0001$ ).

**Conclusion:** These results suggest that at least 1 day of negative fluid balance ( $< -500$  mL), IFN- $\gamma$ , IL-12, and TNF- $\alpha$  may be a good independent predictors of survival in patients with severe sepsis. These findings suggest the hypothesis that four independent predictors of severe sepsis portend a good prognosis for a larger prospective study (Sains Medika, 4(1):13-22).

**Key words:** kidney, multiple organ failure, severe sepsis, urine.

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Sepsis berat pada manusia mencakup arteriolar, dilasi venular, kebocoran kapiler dan respon imunodulator. Intravascular volume replacement selama resusitasi sering menyebabkan sirkulasi darah menjadi hipotensif. Hipotesa dari penelitian ini adalah bahwa pasien dengan sepsis berat memiliki faktor prediksi kesembuhan daripada yang tidak.

**Metode Penelitian:** studi *Randomized Clinical Trials* ini melibatkan 110 pasien yang menderita sepsis berat di ICU/HCU. APACHE II pada hari pertama, skor SOFA, IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , dan balans cairan dihitung dari data. Pasien diberi perawatan sepsis berat sesuai dengan the *International Consensus Committee*. Data dianalisa dengan pendekatan presisi menggunakan Mantel-Haenszel test.

**Hasil Penelitian:** Dari 110 sampel, umur berkisar antara 46 sampai 71 tahun dengan rerata  $63.45 \pm 3.97$  tahun. Rerata skor APACHE pada hari pertama dirawat adalah  $26.53 \pm 2.86$ , skor sofa pada hari pertama adalah  $9.57 \pm 1.24$ . 21 pasien meninggal (tidak sembuh dan memiliki rerata APACHE II daripada pasien yang sembuh (29.85 vs 20.46) secara berurutan ( $p < 0.01$ ). IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , dan skor SOFA ( $p < 0.01$ ) yang lebih tinggi. Sedangkan 26 pasien yang menerima balans cairan negatif  $> 500$  mL sebelum hari ketiga bertahan hidup (RR 5.0; 95% CI : 2.3 to 10.7,  $p < 0.0001$ ).

**Kesimpulan:** IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , dan balans cairan negatif sekurang-kurangnya 1 hari sejumlah  $\leq 500$  mL dapat digunakan sebagai prediktor bebas yang cukup baik pada pengelolaan sepsis berat. Sebagai acuan prediksi kesembuhan pada sepsis berat, empat faktor di atas mungkin dapat dianggap sebagai faktor prognosis yang baik (Sains Medika, 4(1):13-22).

**ata kunci :** ginjal, kegagalan multi organ, sepsis berat, urin.

<sup>1</sup> Bagian Penyakit dalam Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

\* Email: dr.trihadi@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Sepsis berat (*Severe Sepsis*) atau *Sepsis syndrome* adalah sepsis dengan satu atau lebih tanda kegagalan organ, seperti kardiovaskuler, renal, respirasi, perdarahan, dan metabolik kompleks serta memerlukan resusitasi cairan adekuat (Magder *et al.*, 2004; Hofmann *et al.*, 2005). Sepsis berat (SB) diikuti oleh hipotensi atau hipoperfusi akibat toksin mikrobakteria tertentu (Delagrance and Ambrosso, 2005). Laporan studi melaporkan bahwa hanya 20-40% kasus SB yang dapat diketahui bakteri penyebabnya (Neven and Polansky, 2006).

Insiden SB akan semakin meningkat sejalan bertambahnya sepsis pada lanjut usia. Efek immunomodulator yang berperan pada SB antara lain *tumor necrosis factor* (TNF), interleukin-8 (IL-8), interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), interleukin-12 (IL-12). Selain itu, balans cairan negatif juga berpengaruh terhadap kesembuhan SB (ACCP, 2004; Morgan *et al.*, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF serta balans cairan negatif sebagai faktor prediksi kesembuhan pada sepsis berat.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan uji klinis dengan desain *randomized clinical trial the pre test post test control group design. Double blind* pada pasien yang memenuhi kriteria sepsis berat sesuai ACCP (2004), yaitu: (1) Demam  $> 38^{\circ}\text{C}$  atau  $< 36^{\circ}\text{C}$ , (2) Takipnoe-RR  $> 24$  x/menit, (3) Takikardi-HR  $> 90$  x/m, (4) Leukosit  $> 12.000/\text{ml}$  atau leukopenia  $< 4000/\text{ml}$ , (5) Komplikasi kardiovaskuler sistolik  $< 90$  mmHg atau MAP  $< 70$  mmHg, (6) Renal : produksi urin  $< 0.5$  ml/kg BB/jam, (7) Respirasi :  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$ , (8) Darah : trombosit  $< 80.000/\mu\text{l}$  atau penurunan  $> 50\%$  pada 3 hari sebelumnya, (9) Metabolik asidosis pH  $< 7,30$ . Kelompok eksperimen diterapi Siprofloksasin 2 x 200 mg drip, kelompok kontrol diterapi seftriakson 1 x 2 gram intra-vena, keduanya mendapat gentamisin 3-4 mg/kg BB/ hari dan metronidasol 3 x 500 mg drip. Kriteria eksklusi antara lain: (1) Hamil / laktasi, (2) Gagal jantung/ hati/ ginjal/ hemodialisa, (3) Pemakai pacu jantung /stent arteri koronaria, (4) Anemia ringan – sedang Hemoglobin  $< 8$  gr %.

Variabel tergantung: status sembuh (survival) dan meninggal (non-survival). Penelitian dilaksanakan pada Januari 2001 sampai dengan 31 Desember 2007 di ruang ICU/HCU RSUD Semarang, RS Roemani Muhammadiyah, dan RS Banyumanik Semarang.

Semua sampel yang memenuhi kriteria dilakukan pemeriksaan: (a) Darah rutin menggunakan Analyzer Sysmex XS-800i; (b) IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF menggunakan ELISA pada 450 nm (Di LPPT III UGM Yogyakarta); (c) Menentukan derajat penyakit dengan APACHE II dan SOFA; (d) Pengecatan dan biakan darah/eksudat; (e) Ureum/kreatinin /Na /K /Ca; (f) BGA pada kasus-kasus selektif. Data yang diperoleh diuji statistik menggunakan t-test dan Wilcoxon matched pairs Rank Sum, dalam interval kepercayaan (IK) 95 dan batas kemaknaan  $p < 0,05$ .

#### **HASIL PENELITIAN**

Seratus dua puluh enam sampel memenuhi kriteria, 16 sampel (12,67%) dikeluarkan dari penelitian karena pulang paksa (9 sampel), pindah RS lain (7 sampel). Dari 110 sampel, rerata umur 56,  $39 \pm 4,78$  tahun. Tujuh puluh delapan sampel dirawat ICU melalui IGD, sisanya dari ruangan dan kamar operasi. Rerata skor APACHE pada hari pertama dirawat adalah  $26,53 \pm 2,86$ , skor SOFA dari pertama sebesar 4 sampai 18. Enam puluh tiga sampel tercatat infeksi Gram negatif, tiga puluh empat sampel Gram positif, tujuh sampel diidentifikasi jamur, sisanya negatif (Tabel 1).

Sembilan belas sampel meninggal (non-survival) atau sebesar (37,03%), 3 sampel meninggal pada kelompok survival (11,53%) ( $p < 0,01$ ). Sembilan puluh dua sampel (Tabel 2) yang mengalami balans cairan negatif  $> 500$  ml pada akhir hari ke tiga pengobatan, 39 pasien mengalami balans cairan negatif selama 2 hari, dan 14 pasien mengalami negatif balans cairan sejak hari 1. Produksi urine meningkat sangat bermakna pada kelompok Survival dan Non-survival, masing-masing  $1.155 \pm 19,26$  ml Vs  $763 \pm 40,12$  ml ( $p < 0,01$ ), dan produksi urine tetap tinggi pada kelompok yang mengalami negatif balans cairan pada hari ke tiga. Efek diuretik dan pengukuran ureum – kreatinin tidak bermakna ( $p > 0,05$ ).

Tabel 1. Karakteristik pasien survival dan non-survival

Karakteristik	Survival (n = 56)	Non-Survival / meninggal (n = 54)	p Value
Umur / tahun	61.1 ± 6.3	62.4 ± 7.9	0.12
Bakteriologi			
Gram positif	44	35	1.0
Gram negatif	9	8	0.13
Campuran Gram + / -	0	3	0.12
Jamur	1	3	0.90
Tak diketahui	2	5	0.35
Lokasi infeksi			
Saluran kencing	12	16	0.3
Pneumonia	25	18	0.5
Lainnya	19	8	0.7
APACHE II skor	20.4 ± 1.7	29.9 ± 1.7	0.042
SOFA skor – hari 1	6.9 ± 0.8	10.8 ± 1.2	0.01
SOFA skor – hari 3	5.4 ± 0.8	9.5 ± 1.91	0.06
Hari 1 balans cairan (masuk-keluar),mL	3.305,6 ± 575.2	5.618,3 ± 981.2	0.05
Hari 1 masukan cairan, mL	4.943,7 ± 506.0	6.227,3 ± 1037.4	0.26
≥ 1 hari ≤ - 500-mL balans hari ke 3, ( Jumlah pasien )	11	3	0.031
Tiap hari ≥ 500-mL balans cairan	14	2	0.054
Kadar kreatinin, mg/dL	1.9 ± 0.3	3.3 ± 0.6	0.05
Memerlukan hemodialisis	0	2	0.20
Memerlukan ventilator mekanik	7	17	0.01
Kadar Interferon-Gamma – pg/ml	21,55 ± 3,51	23,81 ± 4,76	0.23
Kadar Interleukin 12 – pg/ml	22, 57 ± 4,35	24,83 ± 4,88	0.07
Kadar TNF – α – pg/ml	28,72 ± 5,70	26,92 ± 5,89	0.007
Diuretik	5	16	0.67

\* Nilai tercantum adalah rerata, simpang baku, atau jumlah (n)

Pada akhir terapi hari ke 10, kadar IFN- $\gamma$  berbeda bermakna pada kelompok survival dan non-survival masing-masing  $65,11 \pm 16,39$  pg/ml vs  $27,65 \pm 7,63$  pg/ml ( $p < 0,01$ ). Pada akhir terapi hari ke 10, kadar IL – 12 meningkat sangat bermakna antara kelompok survival dan non-Survival, masing-masing sebesar  $53,76 \pm 14,06$  pg/ml vs  $29,33 \pm 7,42$  pg/ml ( $p < 0,01$ ). TNF- $\alpha$  pada akhir terapi hari ke 10, meningkat pada kelompok Non-Survival dibandingkan dengan kelompok Survival, masing-masing  $54,72 \pm 8,25$  pg/ml vs  $21,86 \pm 5,81$  pg/ml ( $p < 0,01$ ). Pada analisis APACHE II maupun SOFA, tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok survival dan non-survival, maupun antar kelompok terapi ( $p > 0,05$ ) (Tabel 3).

Tabel 2. Perbandingan balans cairan negatif Survival dan Non-Survival

Karakteristik	Jumlah kasus balans cairan negatif hari ke 3 (n = 26)	Jumlah kasus balans cairan negatif hari ke 3 (n = 27)	p Value
Mortaliti, %	3 ( 11,53 )	19 ( 37,03 )	< 0.01
Umur, tahun	57.7 ± 7.5	72.6 ± 4.1	0.10
Bakteriologi			
Gram positif	3	6	0.57
Gram negatif	6	6	0.38
Campuran Gram positif/negatif	0	1	0.41
Jamur	1	0	0.23
Tidak diketahui	1	3	0.49
Lokasi infeksi			
Infeksi saluran kencing	5	5	0.46
Pneumonia	3	8	0.25
Lainnya	3	3	0.61
APACHE II skor	20.3 ± 2.1	26.2 ± 2.4	0.08
SOFA skor – hari 1	7.5 ± 1.0	8.2 ± 1.1	0.63
SOFA skor – hari 3	4.7 ± 0.9	8.8 ± 1.4	0.03
Balans cairan hari 3 (masuk-keluar), mL	3,172.8 ± 774.4	1,818.1 ± 195.9	0.001**
Masukan cairan hari 1, mL	4,660.2 ± 621.4	6,095.3 ± 843.5	0.18
Kreatinin hari 1 - mg/dL	2.1 ± 0.4	2.1 ± 0.4	0.99
Memerlukan ventilator mekanik	4	11	0.11
Jenis terapi yang diberikan	26	27	0.53
Kadar Interferon – y	65,11 ± 16,39	27,65 ± 7,63	0.001**
Kadar Interleukin – 12 – pg/ml	53,76 ± 14,06	29,33 ± 7,42	0.001**
Kadar TNF-α – pg/ml	21,86 ± 5,81	54,72 ± 8,25	0.001**
MAP < 60 mm Hg ( hari ke 2 - 3 )	4	7	0.70
Stressor lain ( hari ke 3 )	0	2	0.23
Diuretik	5	7	0.93

Table 3. Perbandingan Rasio Risiko (RR) kelompok survivor dibandingkan dengan kelompok non-survivor yang mengalami balans cairan negatif pada hari ke 3

Faktor Risiko	Jumlah pasien	Jumlah pasien dengan balans cairan negatif	RR	95% CI
APACHE II skor < 20	9	5	1.3	0.8 - 2.3
= 20	18	6	6.0	1.7 - 21.2
Usia, tahun < 65	8	5	3.0	0.6 - 14.8
= 65	19	6	3.3	1.4 - 7.6
SOFA skor ( hari ke 1 ) < 10	17	7	2.5	1.2 - 5.3
= 10	10	4	6.0	1.0 - 35.9
SOFA skor ( hari ke 3 ) < 10	19	9	3.3	1.3 - 8.6
= 10	6	1	5.0	0.9 - 28.9
Ventilator mekanik Ya	15	4	3.7	1.4 - 9.6
Tidak	12	7	2.5	0.9 - 7,3
Kreatinin - mg/dL < 2.0	14	5	2.3	1.1 - 4.7
= 2.0	13	6	7.0	1.1 - 42.9

## PEMBAHASAN

Penelitian ini membuktikan bahwa IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , dan balans cairan negatif dapat digunakan sebagai faktor prediksi survival dan non-survival pasien sepsis berat. Hasil ini sesuai penelitian sebelumnya, meskipun tanpa faktor sitokin sebagai imuno-modulator (Robbins and James, 2005).

Jenis terapi yang diberikan antara kelompok siprofloksasin dibandingkan dengan kelompok seftriakson tidak berbeda secara bermakna, dengan kata lain kedua jenis terapi sama baiknya ( $p > 0,05$ , IK-95). Hal ini mendukung laporan sebelumnya bahwa efek terapi antibiotika tidak banyak berubah pada sepsis berat, justru faktor lain yang masih berperan penting dalam usaha survival (Moreno and Vanelli, 2005; Dorhmel and Knoussen, 2007).

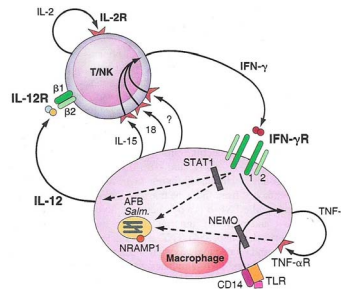
Pada sepsis berat terjadi maldistribusi aliran darah, volume plasma, dan hipovolemia karena dehidrasi intraseluler akibat kerusakan difuse kapiler dan cairan intravaskuler. Protokol balans cairan negatif < 500 ml/ hari terbukti efektif meningkatkan survival. Penelitian ini juga membuktikan bahwa lokasi infeksi, antibiotika yang diberikan, bentuk operasi (laparotomi maupun urologi), tidak banyak mempengaruhi mortaliti (Moreno and Vanelli, 2005). Mekanisme balans cairan negatif mengatasi sepsis berat yaitu melalui:

- (1) Mengendalikan *insensible-water loss*, muntah, diare, poliuria, dan gangguan keseimbangan elektrolit, karena asidosis metabolik atau respiratorik.
- (2) Meningkatkan *cardiac-output* dan resistensi vaskular sistemik yang lebih efektif, karena mengurangi edema-paru dan obstruksi ekstra-kardiak. Produksi urin ideal adalah > 0,5 ml/ Kg BB/ jam, sehingga homeostasis tubuh lebih adekuat. Pada survival, fungsi miokardium kembali normal dalam beberapa hari pasca-pengobatan. Meskipun disfungsi miokardium berperan pada terjadinya hipotensi, fase refrakter ini mungkin mampu diatasi oleh hipoperfusi yang pulih-asal, baik melalui pembuluh darah perifer maupun visceral: jantung, ginjal dan abdominal. Bila hipotensi segera teratasi, maka Tubular Nekrosis Akut dapat dicegah perburukannya.

IL-12 merupakan antigen anti-inflamasi bekerjasama dengan IFN- $\alpha$  bersifat umpan-balik positif, terutama pada infeksi mikrobakterial intraseluler seperti Tuberkulosis atau salmonela. Kegagalan IL-12 menghambat pelepasan LPS ke arah permukaan monosit sebagai endo-toksin, dapat berakibat gagalnya jaringan perfusi-ventilasi kardio-pulmonal yang ditandai dengan menurunnya PO<sub>2</sub> pada kelompok Non-survival. Dorhmel and Knoussen (2007) melaporkan bahwa mekanisme IL-12 menghambat sepsis berat melalui :

- (1) Menghambat peningkatan permeabilitas kapiler alveolar, sehingga kandungan air dan elektrolit intra vaskular dikurangi dengan cepat.
- (2) Meningkatkan kemampuan pengembangan paru dan pertukaran oksigen, ditandai dengan meningkatnya arterial Oksigen PaO<sub>2</sub> > 200, sehingga menghindari terjadinya ARDS yang sering dijumpai pada sepsis berat.
- (3) Meningkatkan sensitifiti atau kepekaan beberapa reseptor vital, seperti *Toll-like receptor*, *Mannose receptor*.

TNF- $\alpha$  merupakan sitokine-pirogenik sangat berpengaruh kepada mortaliti survival dan non survival (Gambar 1). Sitokin ini sering menyebabkan demam rekuren walau tanpa infeksi yang nyata, kemungkinan ekspresi endo-toksin kuman akan memacu ekspresi TNF. Efek yang ditimbulkan TNF adalah monositopenia akibat infeksi akut, stress berlebihan baik metabolik atau organik. Pada sepsis berat, TNF memacu lekosit dan sel endotel vaskular untuk melepaskan sitokin lain memproduksi prostaglandin dan leukotrien di daerah infeksi. Pada studi in vitro terbukti bahwa TNF yang tinggi dalam darah akan menyebabkan sepsis berat bahkan septik syok dan DIC. Sampai sekarang belum diketahui mekanisme terjadinya infeksi yang berat ini. Walaupun TNF berfungsi sebagai mediator penting, tetapi hanya sedikit sitokin pro-inflamasi yang mampu bertahan pada innat-imuniti. Mediator penting lainnya adalah Lipopolisakarida (LPS) atau disebut endo-toxin yang berfungsi sebagai inang-protein (*LPS-binding protein*). Mediator ini akan mentransfer LPS ke CD 14 pada permukaan monosit, makrofag, dan netrofil. LPS dan CD 14 kemudian berikatan dengan TLR-4 membentuk kompleks-molekul yang melepas signal –penanda khusus ke dalam intraseluler.



Gambar 1. Hubungan IFN  $\gamma$ , IL 12, TNF  $\alpha$ , pada sepsis berat (Dorhmel and Knoussen, 2007)

Signal ini segera dilanjutkan oleh TNF untuk ditransfer ke sel dan jaringan yang lain, sehingga reaksi akibat sepsis berat makin luas. Penelitian ini mendapatkan bahwa kadar TNF sangat tinggi pada kelompok non-survival, kemungkinan akibat inflamasi berat (Frank and Chang, 2002). Banyaknya kasus non-Survival pada kelompok dengan APACHE II dan SOFA tinggi sudah dapat diperkirakan (Zismann and Panos, 2007; Vardas *et al.*, 2006).

Secara teori, kemungkinan balans cairan negatif disebabkan oleh :

- (1) Perbaikan efek vasodilatasi dan kerusakan kapiler ginjal (fase "ebb"), sehingga hipoperfusi jaringan teratasi (Emmanuel *et al.*, 2006)
- (2) Keberhasilan resusitasi intraseluler pada gagal multi organ (Tsakisse *et al.*, 2004)
- (3) Penurunan kaskade mediator sepsis terutama tonus vaskuler perifer.
- (4) Meningkatnya sirkulasi perifer dan sirkulasi sentral dengan meningkatnya urine dan membaiknya ureum dan kreatinin (Claudine *et al.*, 2007)

Diperkirakan pada kelompok survival, lebih cepat mengalami re-sirkulasi pada *flood-phase*, terutama ginjal dan jantung. Hal ini dikuatkan data pada kelompok non-survival, ternyata kadar ureum, kreatinin tetap tinggi dan produksi urine yang rendah. Peran diuretik ternyata tidak bermakna pada kedua kelompok ( $p > 0,05$ ), seperti juga fungsi ventilator (Kristina *et al.*, 2006; Horvath *et al.*, 2007). Efek imuno modulator IFN- $\gamma$ , IL-12 juga penting untuk menghambat cascade – mediator sepsis, seperti pada infeksi mikrobakteri lain (Holger *et al.*, 2006; Jeffrey and Wanner, 2006).

Keterbatasan penelitian ini adalah sampel yang kecil dan sangat bervariasi strata-spesifik RR. Walaupun variabel lain tidak mempunyai hubungan langsung terhadap mortaliti, namun setidaknya 4 faktor di atas dapat digunakan sebagai faktor prediksi.



## KESIMPULAN

Penelitian ini mendapatkan bahwa IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , dan balan cairan negatif sekurang-kurangnya 1 hari sejumlah  $\leq 500$  ml selama 3 hari dapat digunakan sebagai prediktor bebas yang cukup baik pada pengelolaan sepsis berat. Sebagai acuan prediksi survival pada sepsis berat, empat faktor di atas mungkin dapat dianggap sebagai faktor prognosis yang baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- American College of Chest Physicians – Society of Critical Care Medicine, 2004, Consensus Conference : definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis, *Crit Care Med*, 31:179 – 185
- Claudine G, Wegmann M, Biao H., 2007, Role of Serotonergic Receptprs in Severe Sepsis, *Respir Cell Mol Biol*, 328 : 476 – 82
- Delagrance M, Ambrosso HG., 2005, In vivo assessment of regional microvascular albumin leakage during Salmonella severe sepsis, *J Crit Care*, 53: 467-74.
- Dorhmel H, Knoussen GF., 2007, Prognostics factors of Interferon-Gamma, Interleukin-12 modulatory due severe sepsis, *Nature Sc*, 326: 686 – 94
- Emmanuel N, Gregory I, Clouverakiss J., 2006, Prognostics Factors for Survivor in Severe sepsis, *Infect And Immunity*, 94 : 537 – 43
- Frank LJ, Chang TK., 2002, Negative Fluid Balance Predicts Survival in Patients With Severe Sepsis: Case – control study, *Intensive Care Med*, 31: 78-84.
- Hofmann GN, Brickly JH, Susane KH., 2005, Peripheral vascular resistance in severe sepsis, *Intensive Care Med*, 264: 658 – 64.
- Holger G, Nathalie S, Dean M., 2006, Effects of immunomodulatory cytokines due severe sepsis, *Infect And Immunity*, 528 : 1329 - 34
- Horvath G, Wang Y, Melissa G., 2007 Effects of diuretics in hypoperfusion severe sepsis, *Respir Cell Mol Biol* 351 : 976 – 83
- Jeffrey A, Wanner F., 2006, Early Manifestations of Negative Fluid Balance in severe sepsis due Gram negative bacteria, *Respir Cell Mol Biol*; 257 : 866 – 74
- Kristina L, Milnerr F, Brown J., 2006, TNF- $\alpha$  disrupt due severe sepsis in elderly, *Gerontology*, 375 : 388 – 94
- Magder f, Magnelli S, Johnson TF., 2004, Circuit factors in the high cardiac output of severe sepsis, *J Crit Care*, 527: 637 – 43
- Moreno K, Vanelli Y., 2005, Acute renal failure in ICU: causes, outcomes, and prognostics factor in Hospital mortality, *The LANCET*, 361 : 1464 – 71
- Morgan FG, Patrice J, Sullivan H., 2005, The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction, *Intensive Care Med*, 438: 769 – 74.

- Neven HG, Polansky TR., 2006, Severe sepsis in ICU: fact and ficts?, *Intensive Care Med*, 478: 157 – 64.
- Robbins F, James G., 2005, Estimation of common effect parameter from sparse follow up data, *Biometrics*, 72: 157 – 64
- Tsakisse P, Angela J, Kim L., 2004, Negative Balance Fluid due intravascular leakage in severe sepsis, *CHEST*, 672 : 1747 – 53
- Vardas B, Aristides K, Boyd F., 2006, Interferon-Gamma and Interleukin-12 as prediction on survival severe sepsis, *The LANCET*, 86: 1426 – 33
- Zismann H, Panos V., 2007, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in severe sepsis: a prognostic factors? *Respir Cell Mol Biol*, 37: 759 – 65