

Induksi Sputum pada Asma

Eddy Surjanto dan Niwan Tristanto Martika

Bagian Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FK UNS/SMF Paru
RSUD Dr. Moewardi, Surakarta

PENDAHULUAN

Asma bronkial pada orang dewasa umumnya berlangsung seumur hidup. Asma terdiri atas 3 hal yaitu obstruksi saluran napas yang reversibel, hipereaktiviti serta inflamasi saluran napas. Inflamasi asma merupakan inflamasi kronik saluran napas.¹ Namun demikian penilaian derajat asma berdasarkan gejala klinik dan faal paru, bukan inflamasi kronik saluran napas.² Gejala asma bergantung kepada persepsi penderita.³ Faal paru tergantung pada *effort* dan teknik melakukannya.⁴

Asma dalam derajat apapun merupakan inflamasi kronik saluran napas.⁴ Pada asma intermiten, faal paru dapat normal.⁵ Terdapat sejumlah penderita dengan inflamasi saluran napas namun faal paru normal.⁶ Inflamasi ini sudah terdapat pada asma dini dan sangat ringan.^{7,8} Inflamasi mukosal sudah terjadi sebelum disfungsi paru. Jarak antara inflamasi mukosal dan munculnya disfungsi paru belum diketahui. Inflamasipun ada pada asma episodik pada saat tidak ada gejala.⁹ Menurut Barnes⁹ penderita asma ringan dapat mempunyai respons eosinofil yang sama dengan asma berat.

Indonesia termasuk negara dengan prevalensi asma rendah, yaitu <5% sedangkan di Inggris prevalensi asma sekitar 35%.⁵ Hadiarto¹⁰ menyatakan bahwa walaupun Indonesia dinyatakan sebagai *low prevalence country* (<5%) untuk asma, kenyataan sulit dibantah bahwa asma ada dimana-mana dan bila diambil angka yang pesimis saja yaitu 2.5%, berarti ada 5 juta penyandang asma di Indonesia.

Sel inflamasi yang berperan terutama ialah limfosit T, sel mast dan eosinofil. Limfosit T yang berperan ialah CD4 atau T helper.¹¹ Inflamasi saluran napas merupakan faktor utama pada patogenesis asma. Biopsi bronkus dan *bronchoalveolar lavage* (BAL) digunakan untuk menilai inflamasi saluran napas, namun cara ini merupakan tindakan invasif dan tidak nyaman untuk penderita. Pemeriksaan lain untuk menilai inflamasi saluran napas ialah dengan pemeriksaan sputum. Pada penderita asma dapat dilakukan induksi sputum. Induksi sputum tidak invasif dan dapat digunakan untuk penilaian inflamasi saluran napas.^{12,13}

PENILAIAN INFLAMASI SALURAN NAPAS

Asma merupakan inflamasi kronik saluran napas.¹ Penilaian yang ada saat ini ialah secara tidak langsung melalui gejala dan faal paru.^{1,2} Kelainan faal paru dengan inflamasi saluran napas tidak selalu berkorelasi.³ Penilaian inflamasi saluran napas dengan cara biopsi bronkus dan *bronchoalveolar lavage* melalui bronkoskop serta induksi sputum. Biopsi bronkus dengan bronkoskop serat optik merupakan baku emas (*gold standard*) untuk menilai inflamasi. Kerugian dan keuntungan masing–masing cara tersebut sebagai berikut :

Tabel 1. Keuntungan dan Kerugian Biopsi Bronkus, BAL dan Induksi Sputum

	Keuntungan	Kerugian
Bronkoscopi	• Dapat melakukan biopsi dan BAL. • Sampel dapat diambil dari jaringan mukosa serta sel dan mediator dari lumen saluran napas. • Memberikan informasi mengenai perubahan struktur (epitel, membrana basalis, lamina propia)	• Peralatan mahal • Personil memerlukan latihan • Invasif • Cairan BAL: pemeriksaan dari 1 segmen, hasil campuran dari bronkial dan alveolar • Sampel biopsi hanya berasal dari saluran napas besar
Induksi Sputum	• Relatif tidak invasif • Aman pada penyakit berat • Peralatan tidak mahal	• Dapat terjadi bronkokonstriksi

Dikutip dari (2)

Induksi sputum

Kegunaan pemeriksaan sputum pertama kali dikemukakan pada abad 19 dengan observasi sputum eosinofilia pada penderita asma. Pada tahun 1992 Pin dkk⁴ menguraikan teknik untuk menginduksi produksi sputum pada penderita asma dengan nebulisasi salin hipertonik. Dengan induksi didapatkan sputum yang adekuat dari saluran napas bawah.² Berbagai penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa induksi sputum aman dan dapat dilakukan pada orang sehat maupun penderita asma ringan sampai berat. Sputum yang didapatkan menggambarkan bagian bronkus.⁵ Sputum terinduksi mempunyai korelasi dengan BAL dan kumbah bronkus (*bronchial washing*)⁶ tetapi lebih kecil dibandingkan biopsi bronkus.

Belum ada metode standard induksi sputum. Prinsip yang ada pada berbagai metode ialah :

1. Pengobatan awal dengan bronkodilator ialah salbutamol
2. Monitoring faal paru
3. Nebulisasi dengan nebuliser ultrasonik
4. Konsentrasi cairan salin umumnya 3%, 4% atau 5%.

Akibat samping yang dapat terjadi ialah bronkokonstriksi, dapat dicegah dengan pemberian bronkodilator salbutamol sebelum pemberian cairan salin. Pemberian salin hipertonik lebih efektif dibandingkan salin normal dalam hal menginduksi pengeluaran sputum. Tidak ada perbedaan hasil komposisi sel akibat perbedaan konsentrasi salin. Penggunaan nebuliser ultrasonik lebih berhasil dibandingkan dengan nebuliser jet.^{2,7-11}

Cara mendapatkan sampel sputum

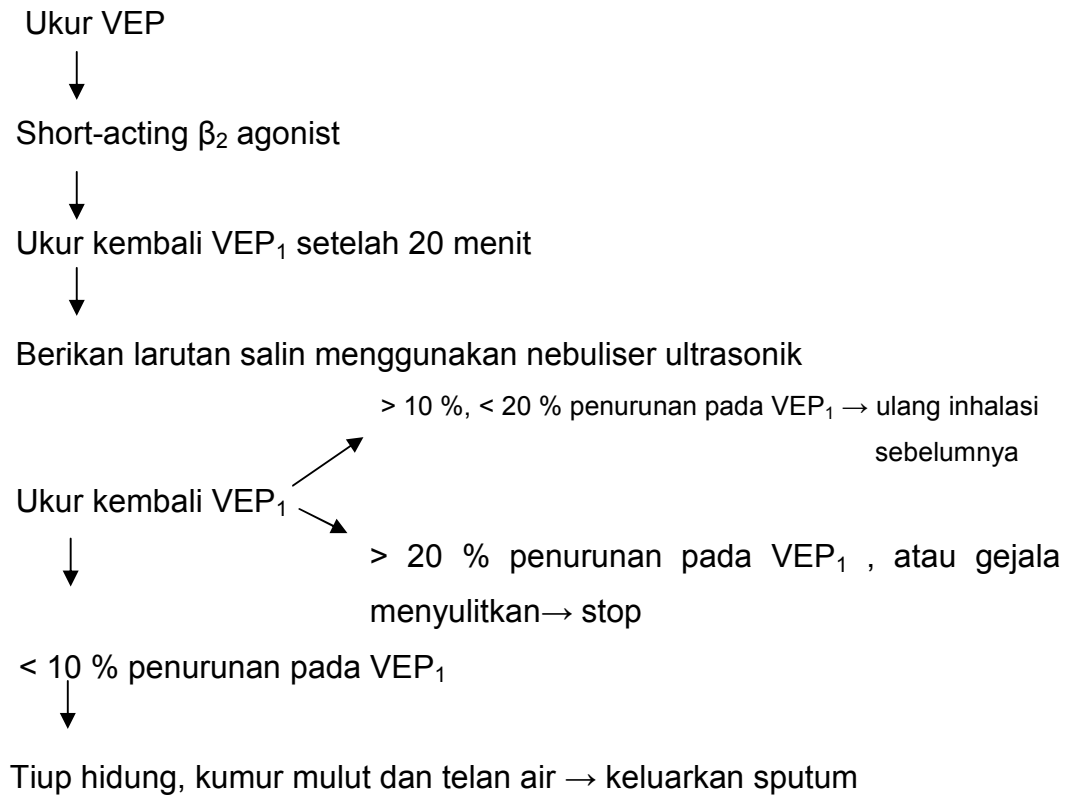
Induksi sputum merupakan prosedur yang aman untuk memperoleh sampel sputum anak-anak dan remaja bahkan saat eksaserbasi. Angka keberhasilan induksi sebesar 67% dianggap memuaskan. Beberapa tahun belakangan ini petanda aktivitas inflamasi diteliti pada pasien asma

menggunakan teknik yang kurang invasif yaitu pemeriksaan tipe sel sputum.²⁵

Pemeriksaan sputum dapat dilakukan dengan cara biopsi, cairan BAL dan induksi sputum. Induksi sputum dapat dihasilkan secara spontan tetapi hasilnya tidak maksimal. Ketidakmampuan menghasilkan sputum secara spontan dapat diatasi dengan induksi melalui inhalasi salin hipertonik. Tujuan induksi sputum adalah mengumpulkan sampel yang cukup dari saluran napas individu yang tidak dapat mengeluarkan secara spontan. Pemeriksaan ini berguna untuk menilai inflamasi saluran napas pasien asma dan gangguan pernapasan lainnya.

Metode induksi sputum dilakukan dengan nebuliser ultrasonik. Hal ini dilakukan sejak nebuliser jenis lain tidak menghasilkan aerosol larutan salin yang cukup. Spirometri dilakukan untuk menilai kemampuan saluran napas dan untuk menghindari terjadinya bronkokonstriksi yang berlebihan selama inhalasi larutan salin. Prosedur harus dipimpin oleh teknisi yang berpengalaman dibawah supervisi dokter yang berpengalaman.¹⁸

Diberikan terapi β_2 agonist kerja singkat sebelum dilakukan induksi sputum, hal ini direkomendasikan sebagai prosedur standar karena larutan salin hipertonik dapat menyebabkan bronkokonstriksi pada penderita asma.²⁶ Konsentrasi larutan salin yang digunakan untuk induksi sputum mempunyai rentang antara 0,9% dan 7%. Konsentrasi dapat dimulai dengan 3%, berikutnya menjadi 4% atau 5%.¹⁶ Larutan salin hipertonik dilaporkan lebih efektif dibandingkan larutan salin isotonik dalam menginduksi sputum. Kompartemen-kompartemen yang berbeda dari saluran napas dibuat menjadi sampel pada titik waktu yang berbeda selama induksi sputum. Contohnya saluran napas pusat dibuat sampel lebih awal sedangkan saluran napas perifer dan alveoli dibuat sampel berikutnya. Waktu inhalasi tampak memiliki kemungkinan keberhasilan yang sama dengan waktu inhalasi lebih panjang kurang lebih 30 menit. Prosedur induksi sputum dijelaskan gambar 2.¹⁸



Gambar 2. Metode induksi sputum

Dikutip dari (18)

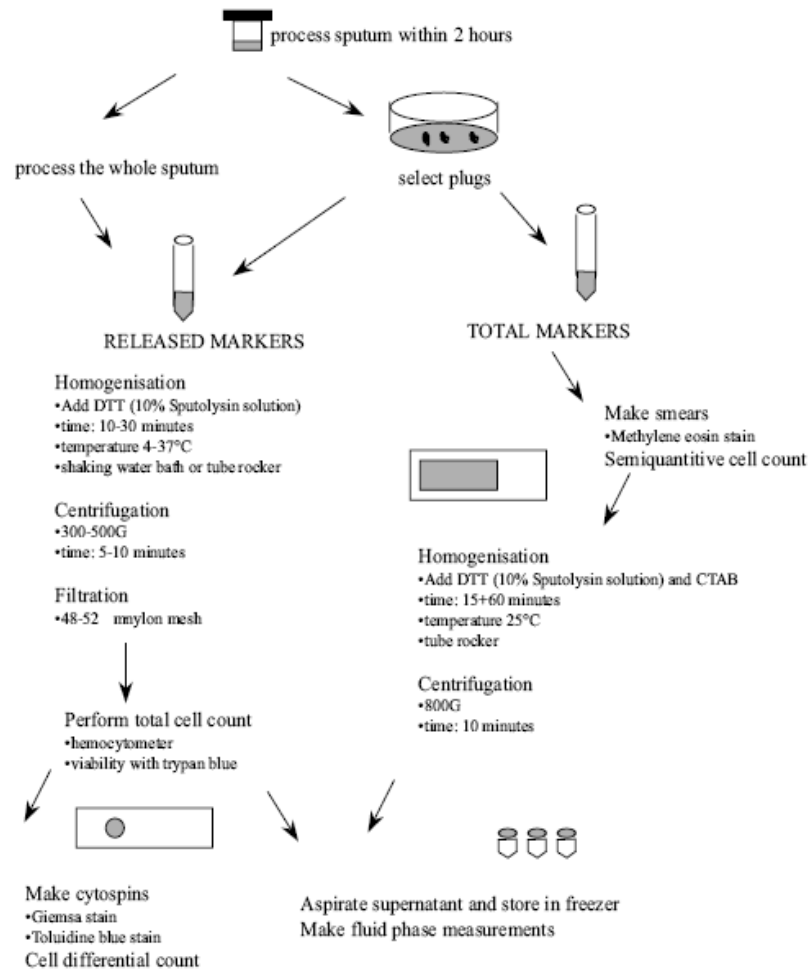
Sputum berisi hasil sekresi dari sel-sel epitel dan submukosa pernapasan. Induksi sputum juga mengandung saliva, transudat dan larutan sodium klorid. Inhalasi semua faktor-faktor itu mempengaruhi konsentrasi sputum.¹⁴

Bartoli, dalam penelitiannya tentang beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas sputum secara spontan atau yang diinduksi pada analisis sel-sel inflamasi mengatakan bahwa pasien dengan peningkatan sekresi saluran napas pada uji pemeriksaan yang terdahulu mudah untuk mengeluarkan sputum pada pemeriksaan mikroskopik. Hal tersebut misalnya jika menghasilkan sampel sputum yang adekuat sampel berikutnya sangat adekuat. Kualitas sampel selanjutnya tidak dapat diperkirakan jika sampel sputum yang pertama tidak adekuat.²⁷

Cara mendapatkan sampel sputum dianjurkan bahwa sputum segera disiapkan dalam waktu 2 jam untuk pengecatan dan penghitungan sel terbaik. Sel-sel yang tidak lengkap dikeluarkan dari lendir karena cenderung menghasilkan pewarnaan yang gelap sehingga identifikasi pemeriksaan mengalami kesulitan. Pemeriksaan dimulai dengan menuangkan seluruh hasil ekspektorasi ke pipa tempat polistirin sebelum ditimbang selanjutnya menambahkan *dithiothreitol* (DTT) 0,1% diteruskan aspirasi dan mengeluarkan pipet *disposabel* dan merangsangnya kedalam *mixer*. Setelah itu memasukkan air kamar mandi yang telah dialirkan dan menggoyangkannya selama 15 menit pada suhu 22°C atau 37°C. Air tersebut disaring dengan ukuran lubang 48 µm dalam pipa yang berbentuk kerucut kemudian menimbang saringan setelah itu dilakukan penghitungan secara manual *total cell count* (TCC) dan memperkirakan kelangsungan hidupnya dengan menghitung TCC per milimeter untuk seluruh ekspektorasi. Setelah itu menyiapkan *citospin* dan melakukan pewarnaan dengan menggunakan metode Wright atau Giemsa kemudian melakukan penghitungan *differential cell count* (DCC) ≥ 400 sel-sel non skuamosa.¹⁸

Terdapat 2 cara lain untuk menghitung fase jumlah sel dan cairan sputum, dijelaskan pada gambar 3. Cara pertama yaitu dengan memilih bagian yang lebih padat dari seluruh sputum (dilakukan oleh Pin dan Pizzichini) sedangkan cara kedua adalah dengan memproses seluruh ekspektorasi yang terdiri dari sputum ditambah saliva (dilakukan oleh Fahy). Terjadi perubahan cara mendapatkan sputum saat ini yaitu dengan memasukkan secara terpisah pengumpulan saliva dan sputum (dilakukan oleh Gershman, Keatings dan Louis). Perbedaan yang saling bertentangan data didapatkan dalam penghitungan DCC diantara 2 cara mendapatkan sputum tersebut. Dilaporkan persentase eosinofil lebih tinggi pada sputum yang didapatkan dengan cara pemilihan sampel dibandingkan sputum yang didapatkan dari seluruh ekspektorasi, namun pada penelitian yang lain tidak didapatkan. Kedua cara mendapatkan sputum tersebut menunjukkan hasil

penghitungan sel yang *reproducible* dan hasil yang berhubungan dengan penanda fase cairan.⁴



Gambar 3. Proses menghasilkan sputum.

Dikutip dari (2)

Praterapi dengan Salbutamol

Sampai saat ini tidak ada laporan kematian pasien yang dilakukan induksi sputum untuk pemeriksaan inflamasi saluran napas. Konstriksi saluran napas yang disebabkan induksi sputum dengan salin hipertonik cepat diatasi dengan pemberian terapi agonist β_2 kerja singkat tetapi seperti diketahui bahwa salin hipertonik atau salin isotonik dapat menyebabkan konstriksi saluran napas penderita asma khususnya pada penderita yang berhubungan dengan hiperresponsif saluran napas.²³ Mekanisme terjadinya konstriksi saluran napas pada inhalasi salin hipertonik tidak diketahui, mungkin melibatkan aktivasi sel mast saluran napas atau ujung saraf sensoris neuro peptida.^{17,18} Aerosol dari air suling dapat menyebabkan konstriksi saluran napas menjadi berat. Salbutamol dapat menghambat hiperresponsif saluran napas terhadap aerosol salin hipertonik. Terapi dengan agonist β_2 kerja singkat dapat mencegah konstriksi saluran napas akibat induksi sputum namun tidak sepenuhnya mencegah konstriksi saluran napas pada semua subjek.²³ Demi keamanan dalam melaksanakan prosedur induksi sputum maka direkomendasikan praterapi dengan menggunakan agonis- β_2 kerja singkat sebagai prosedur standar untuk mencegah bronkokonstriksi yang berlebihan.¹⁸ Salin hipertonik dapat menyebabkan bronkokonstriksi pada penderita asma. Mekanisme ini tidak diketahui penyebabnya, mungkin melibatkan aktivasi sel mast saluran napas atau akhiran saraf sensoris.¹⁶

Dosis salbutamol yang digunakan dalam praterapi belum dibakukan. Dosis salbutamol yang biasa digunakan adalah 200–400 μg , misalnya 2–4 hirupan dengan *metered dose inhaler* (MDI) standar. Praterapi dengan salbutamol dosis tinggi tidak efektif secara *universal* dalam mencegah bronkokonstriksi yang diinduksi oleh salin hipertonik. Bronkospasme berulang dapat menjadi semakin parah atau semakin sulit diatasi, oleh karena itu dosis tunggal salbutamol 200 μg direkomendasikan dengan pengukuran volume ekspirasi paksa detik pertama (VEP₁) sebelum dan

setelah 10 menit. Beberapa penulis memilih dosis sebesar 400 µg dengan alasan bahwa bronkospasme sering terjadi pada dosis sebesar 200 µg, namun hal ini belum diteliti secara resmi.²⁶

Faktor–faktor prediksi pada bronkospasme yang berhubungan dengan induksi

Dua penelitian melaporkan tentang prediktor bronkoskonstriksi berat yaitu tingkat batas dasar hambatan aliran udara dan tingkat hiperresponsif saluran napas terhadap metakolin atau histamin tetapi 2 penelitian tersebut gagal dalam memastikan nilai prediktifnya. Dua penelitian lain melaporkan terdapat korelasi kuat antara penggunaan agonis-β₂ kerja singkat yang berlebihan dengan besarnya penurunan VEP₁ setelah induksi sputum. Terdapat bukti bahwa penggunaan agonis-β₂ secara terus menerus menyebabkan penurunan efek bronkoprotektif terhadap bermacam–macam rangsangan bronkokonstriktor spesifik maupun nonspesifik. Telah ditunjukkan bahwa salbutamol 200 µg atau 400 µg tidak melindungi terjadinya bronkonstriksi berat jika terpajan rangsangan yang relatif kuat. Perlu penelitian lebih lanjut tentang kejadian bronkonstriksi berat saat induksi sputum karena hilangnya efek bronkoprotektif akibat penggunaan agonis-β₂ kerja singkat yang berlebihan atau karena tidak adanya perlindungan terhadap konstriksi saluran napas berat setelah pajanan salin hipertonis.³⁰

Data keamanan dan kemudahan induksi sputum pada pasien dengan asma berat dan sulit dikontrol masih terbatas, demikian juga data tentang toleransi efek bronkoprotektif dan kemanan pada pasien yang reguler menggunakan agonis-β₂ kerja lama masih jarang. Hal lainnya adalah prediktor objektif untuk penyempitan saluran napas berat belum dibuat walaupun beberapa penelitian menunjukkan bahwa tingkat hambatan saluran napas, hiperresponsif saluran napas dan penggunaan agonis-β₂ kerja singkat yang berlebihan dapat memiliki beberapa nilai prediktif.²⁹

Pengawasan fungsi paru selama induksi dan durasi prosedur

Pengawasan fungsi paru selama induksi penting demi keamanan menilai bronkokonstriksi berlebihan dan untuk membakukan manuver ekspirasi paksa selama prosedur induksi dilakukan karena pengaruhnya terhadap produksi sputum dan atau komposisinya belum diketahui.³ Tidak ada pendekatan baku untuk mengawasi fungsi paru selama induksi sputum tetapi sebuah protokol telah diajukan. Banyak peneliti melakukan pengukuran fungsi paru setiap 5-10 menit dengan pemeriksaan lebih lanjut jika timbul gejala bronkokonstriksi. Beberapa metode telah dilakukan, mengingat dispneu dan bronkospasme dapat terjadi secara dini selama inhalasi, mungkin perlu dilakukan pengukuran fungsi paru pada menit pertama nebulisasi untuk mendeteksi subjek yang sangat sensitif terhadap salin hipertonic. Durasi interval pengawasan berkisar antara 1 sampai 10 menit. Volume ekspirasi paksa detik pertama (VEP_1) perlu dimonitor dengan interval ≤ 5 menit selama inhalasi. Penting bahwa setiap subjek diawasi ketat sepanjang prosedur terhadap terjadinya perubahan gejala saat induksi sputum dan pengukuran aliran udara dibuat lebih sering mengingat potensi bahaya terjadinya bronkonstriksi yang berat disebabkan inhalasi salin hipertonic³⁰

Perbedaan pendapat mengenai kapan menghentikan induksi sputum karena alasan keamanan kemungkinan disebabkan sebagian besar subjek dapat tahan terhadap seluruh prosedur induksi. Terdapat perbedaan pendapat deteksi penurunan VEP_1 sebesar lebih dari 10-20% sampai penurunan APE $> 10\%$ dari batas bawah atau kapanpun subjek mengalami gejala yang mengganggu. Fungsi paru perlu diperiksa jika subjek mengalami sesak napas saat induksi sputum. Perlu diperhatikan mengenai persepsi buruk tentang sesak napas pada beberapa pasien yang hanya melaporkannya setelah terjadi penurunan yang besar pada VEP_1 ataupun APE. Sangat bijaksana segera membuat pengukuran fungsi paru yang pertama setelah memulai induksi sputum, hal ini bertujuan untuk

mengidentifikasi subjek yang sangat sensitif terhadap efek bronkokonstriktor salin hipertonik.^{26,30}

Perbedaan metode induksi sputum antara lain konsentrasi salin (biasanya dimulai dengan salin normal), pengukuran VEP₁ berulang pada interval 1 sampai 2 menit dan penghentian prosedur segera setelah sampel sputum diperoleh.^{26,30} Della Fuente menggunakan modifikasi metode yang dijelaskan oleh Pin pada penelitian lain tentang keamanan induksi sputum pada penderita asma yang lebih berat (VEP₁ > 1L). Mereka memulai induksi dengan memberikan salin hipertonik 3% dilanjutkan dengan 4% dan kemudian 5%, masing-masing diinhalasi sebanyak dua periode lima menit.³⁰

Konsentrasi salin fisiologis dan hasil nebuliser

Konsentrasi salin yang digunakan untuk induksi sputum berkisar antara 0.9 sampai 5%.¹⁶ Sumber lain menyebutkan bahwa konsentrasi salin yang digunakan berkisar dari 0,9 sampai 7%. Beberapa peneliti menggunakan konsentrasi salin yang berbeda selama prosedur, dimulai dengan 3% dan secara bertahap ditingkatkan. Konsentrasi salin yang digunakan untuk induksi sputum dan hasil nebuliser mempengaruhi keamanan, toleransi prosedur¹⁸ serta angka kesuksesan prosedur yaitu karakter seluler dan biokimia pengumpulan sputum terinduksi^{16, 29,30}

Salin hipertonik dilaporkan lebih efektif daripada salin normal dalam menginduksi sputum. Jumlah sputum yang dihasilkan setelah induksi dengan salin hipertonik lebih banyak karena peningkatan eksudasi plasma. Larutan salin hipertonik meningkatkan pembersihan sekret bronkial dan menginduksi batuk.²⁵ Salin hipertonik memiliki risiko yang lebih besar dalam menginduksi bronkospasme. Tidak terdapat perbedaan komposisi sel sputum yang diinduksi dengan menggunakan salin normal atau hipertonik. Hanya satu penelitian menunjukkan bahwa meningkatkan konsentrasi salin memiliki keuntungan lebih daripada konsentrasi tunggal. Salah satu penelitian

menunjukkan bahwa salin hipertonik 3% sama berhasilnya dengan menggunakan salin 3-5% yang dinaikkan secara bertahap.³⁰

Nebuliser ultrasonik direkomendasikan karena jenis nebuliser lain biasanya tidak menghasilkan aerosol salin yang memadai. Hal ini diindikasikan dengan penghitungan *cytospin*, beratnya sputum dan total hitung sel.¹⁴ Perlu dilakukan pengukuran total volume inhalasi. Ukuran partikel mempengaruhi deposisi dan distribusi saluran udara. Pengaruh *set up* nebuliser yang berbeda (panjang pipa, katup, dan sebagainya) belum dievaluasi secara sistematis. Terdapat konsensus untuk menggunakan nebuliser ultrasonik dan hasil kira-kira 1 ml/min cukup untuk memperoleh angka kesuksesan yang tinggi.¹⁶

Penelitian tentang perbandingan antara inhalasi larutan salin isotonik dan hipertonik pada pasien asma oleh Catalado menemukan bahwa inhalasi larutan salin hipertonik pada penderita asma menyebabkan bronkokonstriksi pada sebagian besar kasus terlepas dari premedikasi 400 µg salbutamol, terdapat penurunan APE $\geq 20\%$ selama inhalasi larutan salin hipertonik sedangkan pada subjek dengan inhalasi isotonik mengalami penurunan APE tetap $< 20\%$.¹⁵

Sputum Assays

Volume sputum dicatat dan sampel dipindah ke cawan petri untuk karakteristik makroskopik. Kualitas sampel juga dinilai dengan memperkirakan volume dari sekresi saluran napas atas dan derajat kontaminasi saliva. Sputum kemudian dinilai jenis hitung selnya.¹⁶ Sputum yang diinduksi dapat digunakan pada penelitian imunositokimia untuk penanda permukaan sel. Beberapa mediator inflamasi dapat diperiksa dengan menggunakan metode ini. Jenis mediator inflamasi yang dapat diperiksa di sputum dapat dilihat pada tabel 3.¹⁴

Tabel 2. Mediator yang Dipelajari di Sputum

Deskripsi	Mediator
Sitokin	Interleukin-5 (IL-5), IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, Transforming growth factor- α (TNF- α), TGF- β , eotaksin, regulated on activation normal T expressed and secreted (RANTES)
Protein granul Eosinofil	Eosinofil kationik protein (ECP), Eosinofil peroksidase (EPO), Eosinofil protein X (EPX), <i>Major basic</i> protein (MBP)
Produk neutrofil	Myeloperoksidase (MPO), <i>Human</i> neutrofil lipokalin (HNL)
Penanda kebocoran mikrovaskuler	Albumin, fibrinogen, makroglobulin- β ,
Eikosanoid	leukotrien, prostaglandin
Protease	Elastase, triptase, katepsin B, matriks metalloproteinase-9
Protease inhibitor	α -1-antitripsin
Produk terlarut	Nitrit oksida
Lainnya	Substansi P, endothelin-1, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), immunoglobulin

Dikutip dari (14)

Penggunaan metode assay yang disederhanakan untuk mengukur kadar total penanda granulosit pada sputum memungkinkan untuk membedakan pasien dengan gangguan saluran napas dengan individu sehat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode assay dapat digunakan dalam praktek klinis untuk menentukan kadar total penanda pada sampel sputum terinduksi. Semua slide diinkubasi selama lima belas menit pada *phosphate buffered salin* (PBS) dengan 0,2 % *bovine serum albumin* (BSA) sebelum penambahan antibodi primer setelah fiksasi dan atau permeabilisasi, karakteristik antigen dan antibodi dijelaskan pada tabel 4.¹⁴

Eosinofil peroksidase (EPO) merupakan komponen unik dari eosinofil dan Human neutrofil lipokalin (HNL) merupakan komponen unik dari neutrofil. Eosinofil peroksidase (EPO) dan HNL dapat digunakan sebagai penanda untuk identifikasi eosinofil dan neutrofil pada sputum dan cairan lavase bronkial. Eosinofil protein kationik (ECP) yang digunakan secara luas, tidak spesifik terhadap eosinofil. Eosinofil protein kationik (ECP) dapat dideteksi oleh imunositokimia pada eosinofil dan neutrofil. Rentang normal sputum assay dijelaskan pada tabel 5.¹⁴

Tabel 3. Karakteristik Antigen dan Antibodi

Antigen	Ukuran	Lokasi	Antibodi	Konsentrasi
Eosinofil peroksidase (EPO)	67 kDa	Granula eosinofil, matriks	anti-human eosinofil peroksidase tikus, klon IgG	2 µg/mL
Protein kationik Eosinofil (ECP)	18-20 kDa	Granula eosinofil, matriks	Anti-human protein kationik Eosinofil tikus, Klon EG2 (IgG)	1 µg/mL
Mieloperoksidase, (MPO)	> 118 kDa	Granula primer neutrofil dan monosit (azurofilik)	Anti-human Mieloperoksidase tikus, gabungan dari 6 klon (IgG)	2 µg/mL
Human neutrofil lipokalin, (HNL)	40 kDa	Granula sekunder neutrofil (spesifik)	Anti-human neutrofil lipokalin tikus, gabungan dari 6 klon (IgG1)	10 µg/mL

Dikutip dari (14)

Konsentrasi EPO dan eosinofil pada sputum pasien PPOK dan asma lebih tinggi daripada kelompok percobaan lain. Konsentrasi MPO dan HNL lebih tinggi pada penderita PPOK daripada penderita asma dan subjek sehat.¹⁴

Tabel 4. Rentang Normal Sputum Assay

Assay	Rentang normal
ECP	< 2500 µg/L
EPO	< 400 µg/L
MPO	< 1200 µg/L
HNL	< 19300 µg/L

Dikutip dari (14)

Perbandingan hitung jenis sel antara penderita asma dan subjek normal

Hitung jenis eosinofil lebih tinggi pada penderita asma dibanding individu normal. Rasio eosinofil dilaporkan bervariasi dari 20-29% tergantung dari derajat keparahan asma. Peningkatan neutrofil ditemukan pada penderita asma persisten derajat berat. Hal ini mungkin disebabkan adanya respons buruk terhadap terapi kortikosteroid.²² Konsentrasi ECP, tryptase, fibrinogen dan albumin lebih tinggi pada penderita asma daripada subjek normal.

Inflamasi jalan napas yang direfleksikan dengan peningkatan hitung jenis sel eosinofil, *eosinophilic cationic protein* (ECP), dan sitokin inflamasi telah diperlihatkan pada sputum yang terinduksi oleh inhalasi salin hipertonik.¹⁴

Induksi sputum pada penderita asma ringan sampai sedang

Konsentrasi salin yang tetap (misalnya 3% atau 4,5%) atau konsentrasi larutan salin yang dinaikkan dapat digunakan untuk penderita asma ringan sampai sedang. Induksi sputum dapat dilakukan dengan interval 5 menit. Pilihan cara induksi sputum yang lain, jika ada pertimbangan sebaiknya dilakukan pada 1, 4 dan 5 menit serta dilanjutkan dengan 3 periode lima menit pengukuran VEP₁ pada akhir masing-masing interval induksi sputum. Pasien sebaiknya didorong untuk mengeluarkan dahak setelah induksi 5, 10, dan 15 menit.³¹

Induksi sputum pada penderita asma berisiko tinggi

Larutan salin steril 0,9% (juga disebut sebagai salin normal atau salin isotonik) sebaiknya digunakan di awal pada penderita asma berisiko tinggi (misalnya asma berat, saluran napas yang sangat reaktif, eksaserbasi dan penggunaan peningkatan dosis agonis- β_2). Setelah itu dilanjutkan dengan salin 3% atau 4,5% jika VEP₁ tetap >80% dari nilai bawah. Induksi sebaiknya dilakukan dalam periode 30 detik dan 1, 2, 4, 8 menit dan VEP₁ sebaiknya diukur pada akhir masing-masing interval induksi. Pasien diminta untuk mengeluarkan dahak setelah periode 4 menit dan 8 menit.³¹

Brinke dan Anneke dalam penelitiannya tentang induksi sputum pada asma berat dengan protokol yang dibakukan didapat hasil bahwa induksi sputum dapat dilakukan dengan aman dan berhasil pada pasien asma berat yang sulit dikontrol jika protokol yang digunakan sesuai standar, dijelaskan tabel 5.^{32,33}

Tabel 5. Protokol Monitoring VEP₁ Selama Induksi Sputum

FEV ₁ pasca-bronkodilator* < 50% dari prediksi dan < 1.0 L Tidak dilakukan induksi sputum
FEV ₁ pasca-bronkodilator < 50% dari prediksi atau < 1.5 L dan ≥ 1.0 L - 2 menit uji coba dengan NaCl 0.9%, diikuti dengan 3 x 5 menit NaCl 0.9% - Jika penurunan VEP₁ ≤ 10% dari nilai dasar (pasca-salbutamol), lanjutkan induksi sputum - Jika penurunan VEP₁ > 10% dari nilai dasar atau terjadi gejala yang mengganggu, hentikan induksi sputum
VEP ₁ pasca-bronkodilator ≥ 50% dari prediksi dan ≥ 1.5 L - 2 menit uji coba dengan NaCl 0.9%, diikuti dengan 3 x 5 menit NaCl 0.9, 3.0 atau 4.5% - Jika penurunan VEP₁ ≤ 10% dari nilai dasar (pasca-salbutamol), lanjutkan induksi sputum, gunakan konsentrasi yang lebih tinggi - Jika penurunan VEP₁ > 10% tetapi ≤ 15% dari nilai dasar, lanjutkan induksi sputum, gunakan konsentrasi yang sama - Jika penurunan VEP₁ > 15% dari nilai dasar atau terjadi gejala yang mengganggu, hentikan induksi sputum
* Pasca-bronkodilator : setelah pra-terapi dengan salbutamol 400 µg.

Dikutip dari (32,33)

KESIMPULAN

1. Induksi sputum merupakan metode memperoleh sputum dengan cara non invasif.
2. Pemberian inhalasi dengan salin hipertonik dapat menyebabkan konstriksi saluran napas penderita asma.
3. Hasil pemeriksaan sputum dapat sebagai penanda inflamasi pada penderita asma.

DAFTAR PUSTAKA

1. National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), 2002. Global Initiative For Asthma
2. Rytilla P, 2002. Induced sputum for assessment of airway inflammations in patients with COPD, asthma and asthma like symptoms, academic disertation. Departement of Medicine Helsinki University Central Hospital, Finlandia.
3. Crimi E, Spanevello A, Neri M, Phillip W, Rossi GA, Brusasco V. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 4-9.
4. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Gabardo G, Denburg JA, Hargreave FE, Dolovich J. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation.??

5. Romagnoli M, Vachier P. Eosinophilic inflammation in sputum of poorly controlled asthmatics. *Eur Respir J* 2002; 20:1370-7.
6. Jayaram L, Parameswaran K, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts, their usefulness in clinical practice. *Eur Respir J* 2000; 16:150-8.
7. Fuente PT, Romagnoli P, Godard P, Bousquet J, Chanez P. Safety of inducing sputum in patients with asthma of varying severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157 :1127-30.
8. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced Sputum Cell Counts in Healthy Adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:475-8.
9. Magnussen H, Holz O, Sterk PJ, Hargreave FE. Noninvasive methods to measure airway inflammations: future considerations. *Eur Respir J* 2000; 16:1175-9.
10. Brinke AT, Lange CD, Zwinderman AH, Rabe KF, Sterk PJ, Bel EH. Sputum induction in severe asthma by a standardized protocol. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:749-53.
11. Zeibecoglou, Siafakas NM. Induced sputum in asthma. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001; 56:500-3.
12. Metso T. Detection of intracellular markers in airway inflammation a biochemical and immunocytochemical study in induced sputum. In: The medical faculty of the University of Helsinki; 2002.p.10-22.
13. Brightling CE. Sputum induction in asthma : A research technique or a clinical tool. *Chest* 2008; 19 (3):50 atability 3-504.
14. Sakula A. Charcot-leyden cystals and curschmann spiral in asthmatic sputum. *Thorax J* 1986; 41:503-7.
15. Magnussen H . Monitoring airway inflamation in asthma by induced sputum. *Eur Respr J* 1999; 13: 5-7.
16. Scheicher ME, Filho JT, Vianna EO. Sputum induction : review of literature and proposal for a protocol. *Sao Paulo Med J* 2003; 121 (5):213-9.
17. Sterk PJ, Hargreave FE, Kips JC, Inman MD, Louis, Pizzichini MM, et al. Clinical applications of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur Respr J* 2002; 20:40-3.
18. Page CP, Coyle AJ, Robertson. The role of PAF, platelet and eosinophils in bronchial asthma. In: Makino S, editor. Platelet activating factor and airway hyperreactivity in asthma. Taipei:Excerpta medica asia pacific congres series no 77; 1987.p.4-18.
19. PDPI. Asma pedoman diagnosis dan penatalaksanaan di Indonesia. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 2004.p.4-5.

20. Brightling CE, Ward R, Woltman G, Bradding P, Sheller JR, Dworski R. Induced sputum inflammatory mediator concentration in eosinophilic bronchitis and asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 2000; 162:878-82.
21. Veen JCCM, Gouw HWF, Smits HH, Sont JK, Hiemstra PS, Sterk PJ, Bel EH. Repeatability of cellular and soluble markers of inflammation in induced sputum from patients with asthma. *Eur Resp J* 1996; 9:241-7.
22. Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Publishing Group* 2008;8183-191.
23. Palomino ALM, Helena M, Bussamra CF, Beatriz , Romanholo S, Martins MA, et al. Induced sputum in children and adolescents with asthma: safety, clinical applicability and inflammatory cells aspects in stable patients and during exacerbation. *Journal de Pediatria* 2005; 81(3):216-22.
24. Chanez P, Holz O, Djukanovic R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction. *Eur Respr J* 2002; 20:3-8.
25. Bartoli ML, Bacci E, Cianchetti, Dente FL, Franco AD, Vagaggini B, et al. Some factors influencing quality of spontaneous or induced sputum for inflammatory cell analysis. *Monaldi Arch Chest* 2007; 67 (2):81-3.
26. Pizzichini MM, Leigh R, Djukanovic R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respr J* 2002; 20:9-18.
27. Cataldo D, Foidart J.M, Lau L, Bartsch P, Djukanovic R Louis R. Induced sputum: comparison between isotonic and hypertonic saline solution inhalation in patients with ashtma. *Chest* 2001; 120:1815-21.
28. Brinke A, Lange C, Zwinderman AH, Rabe KF, Sterk PJ. Bel EH. Sputum induction in severe asthma by a standardized protocol. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:749-53.
29. Wong HH, Fahy JV. Safety of one methode of sputum induction in asthmatic subjects. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 299-303.
30. Wilson NM, Bridge P, Spanevelo A, and Silverman M. Induced sputum in children feasibility, repeatability, and relation of findings to asthma severity. *Thorax* 2000; 55:768–74.
31. Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, Pizzichini MMM, Pizzichini E, et al. Method of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hibridisation. *Eur Respir J* 2002; 37:19s-23s