

Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Model Sepsis yang Diberikan Efek Preventif Ciprofloxacin dan Diinduksi *Escherichia coli*

*(KIDNEY HISTOPATHOLOGICAL FEATURE OF
SEPSIS MICE MODEL GIVEN PREVENTIVE EFFECTS
OF CIPROFLOXACIN AND INDUCED BY ESCHERICHIA COLI)*

**Lisa Savitri¹, Elfred Rinaldo Kasimo¹, Datin An Nisa Sukmawati²,
Syntia Tanu Juwita¹, Ester Lianawati Antoro¹, Ida Septika Wulansari¹,
Stanislaus Rachel Pringgadani¹, Akbar Nur Kholis¹**

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis,

²Program Studi Farmasi,

Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri,

Jalan Selomangleng No. 1. Kelurahan Pokol,

Mojoroto. Kediri, Jawa Timur, Indonesia 64115

Email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

ABSTRACT

Escherichia coli bacteria is one of the most commonly associated bacteria with an increased incidence of sepsis, which is a severe clinical condition often occurring in intensive care units with mortality rates ranging from 35% to 50% in septic shock. The host response to infection leads to organ failure in patients with sepsis. One organ that is severely affected is the kidney, with sepsis being the leading cause of acute kidney injury in critically ill patients. This study is a quantitative descriptive study aimed to reveal the comparison of histopathological kidney profiles in a sepsis-induced *Escherichia coli* mice (*Mus musculus*) model given preventive effects of ciprofloxacin. Adapted mice were treated for 14 days with the following variations: 1) normal mice (N), 2) mice induced with *E. coli* (with preventive administration of aquades) (K-), 3) mice induced with *E. coli* (with preventive administration of ciprofloxacin) (K+). The histopathological structure of the N treatment group did not show any damage to the renal tubules. In the K- treatment group, intertubular bleeding was observed, characterized by excessive bleeding in the intertubular spaces. Additionally, intratubular bleeding accompanied by pyknosis, karyorrhexis, and karyolysis was also found. In the K+ treatment group, pyknosis, congestion, karyolysis, karyorrhexis, and necrosis was observed, but intratubular bleeding was not present. This study reinforces the findings from recent animal and human studies that indicate sepsis with acute kidney injury can not be explained solely by morphological changes.

Keywords: histopathology; kidney; sepsis; *Escherichia coli*; ciprofloxacin

ABSTRAK

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang paling sering dikaitkan dengan peningkatan insiden sepsis, yang merupakan kondisi klinis yang parah dan sering terjadi di unit perawatan intensif dengan tingkat kematian bervariasi antara 35% dan 50% pada syok septik. Respons inang/host terhadap infeksi menyebabkan kegagalan organ berfungsi pada pasien dengan sepsis. Salah satu organ yang terkena dampak parah adalah ginjal, dengan sepsis menjadi penyebab utama cedera ginjal akut pada pasien sakit kritis. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif untuk mengungkap perbandingan gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) model sepsis yang diinduksi *E. coli* yang diberikan efek preventif ciprofloxacin. Mencit yang telah

diadaptasikan diberikan perlakuan selama 14 hari dengan variasi sebagai berikut: 1) mencit normal (N), 2) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif aquades) (K-), 3) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif ciprofloxacin) (K+). Struktur histopatologi kelompok N tidak menunjukkan adanya kerusakan pada tubulus ginjal. Pada kelompok perlakuan K- ditemukan adanya perdarahan inter-tubuler yang ditandai dengan perdarahan berlebih di ruang antar tubulus. Selain itu juga ditemukan perdarahan intra-tubuler disertai terjadinya piknosis, serta karioreksis. Pada kelompok perlakuan K+ ditemukan piknosis, kongesti, kariolisis, karioreksis dan nekrosis, tetapi perdarahan intra-tubuler tidak ditemukan. Penelitian ini menguatkan temuan dari penelitian hewan dan manusia baru-baru ini yang menunjukkan bahwa sepsis dengan cedera ginjal akut tidak dapat dijelaskan hanya dengan perubahan morfologis.

Kata-kata kunci: histopatologi; ginjal; sepsis; *Escherichia coli*; ciprofloxacin

PENDAHULUAN

Escherichia coli menyusun secara fisiologis bagian dari mikroflora saluran pencernaan (Foxman, 2010; Kaper, *et al.*, 2004; Kim, 2012; Leimbach, *et al.*, 2013), yang merupakan keluarga Enterobacteriaceae, komensal fermentasi, *non-sporulated* dan anaerobik fakultatif usus besar (Berg, 1996; Gordon *et al.*, 2003). Meskipun mikroorganisme komensal adalah bakteri Gram-negatif yang paling sering menjadi penyebab manusia terinfeksi, ternyata mereka memiliki galur/*strain* patogen yang menyebabkan berbagai macam infeksi usus atau ekstra-usus, seperti saluran kemih, intra-abdominal dan jaringan lunak, sepsis, meningitis neonatal, infeksi gastrointestinal, dan pneumonia, di samping sering juga menyebabkan bakteremia (Kim, 2012; Wasinski, 2019).

Bakteri *E. coli* adalah salah satu bakteri yang paling sering diisolasi dalam aliran darah (bertanggung jawab atas sekitar 20% dari semua isolat yang signifikan secara klinis) dan merupakan organisme Gram-negatif yang paling sering diisolasi pada pasien dewasa dengan bakteremia (Mora-Rillo *et al.*, 2015). Di Amerika Serikat, sepsis karena *E. coli* dihubungkan dengan sekitar 40.000 kematian pada tahun 2001, jumlah yang sesuai dengan 17% dari semua kasus sepsis (Biran *et al.*, 2018). Studi telah menunjukkan peningkatan insiden sepsis *E. coli* pada semua kelompok umur dibandingkan dengan bakteri *Streptococcus* grup B selama 10 tahun terakhir (Mendoza-Palmar *et al.*, 2017).

Sepsis adalah kondisi klinis yang parah dan sering terjadi di unit perawatan intensif dengan tingkat kematian terkait bervariasi antara 35% dan 50% pada syok septik (Annane *et al.*, 2005; Rangel-Frausto *et al.*, 1995; Angus

et al., 2001). Respons inang/*host* terhadap infeksi menyebabkan kegagalan fungsi organ pada pasien dengan sepsis (Annane *et al.*, 2005). Salah satu organ yang terkena dampak parah adalah ginjal, dengan sepsis menjadi penyebab utama cedera ginjal akut pada pasien sakit kritis (Rangel-Frausto *et al.*, 1995; Angus *et al.*, 2001; Moeckel, 2018). Selain itu, pasien dengan sepsis dengan cedera ginjal akut dua kali lebih mungkin meninggal dibandingkan pasien dengan sepsis tanpa cedera ginjal akut (Forni *et al.*, 2017; Su *et al.*, 2007).

Untuk waktu yang lama, nekrosis tubuler akut karena hipoksia bersama dengan respons hiperinflamasi yang parah dianggap sebagai pendorong utama gagal ginjal pada pasien dengan sepsis dengan cedera ginjal akut (Moeckel, 2018). Tubulus ginjal memiliki pasokan oksigen marjinal dikombinasikan dengan konsumsi oksigen yang tinggi, namun penurunan aliran darah ginjal di bawah batas kritis tidak dilaporkan secara seragam dalam studi klinis sepsis dengan cedera ginjal akut (Forni *et al.*, 2017). Selain itu, gangguan hemodinamik belum ditemukan sebagai penyebab utama gagal ginjal pada pasien dengan sepsis (Su *et al.*, 2007; Payen *et al.*, 2012; Dewitle *et al.*, 2012).

Penelitian histologis yang menginvestigasi kerusakan morfologis seperti nekrosis tubular akut pada pasien dengan sepsis tanpa cedera ginjal akut masih sangat terbatas (Langenberg *et al.*, 2008). Sebelumnya, sebagian besar data diperoleh dari studi pascamati (*post-mortem*) yang dilakukan setelah berjam-jam atau bahkan berhari-hari setelah kematian. Hal ini dapat menyebabkan autolisis jaringan dan proses *post-mortem* yang menghambat interpretasi patofisiologi (Waikar *et al.*, 2018). Namun, dalam waktu yang terakhir ini, dua penelitian penting melaporkan temuan histopatologi dari biopsi *post-mortem* yang dilakukan segera

setelah kematian (Takasu *et al.*, 2013; Lerolle *et al.*, 2018). Diperlukan pemahaman yang lebih baik tentang mekanisme patofisiologi yang mendasari cedera ginjal akut pada pasien dengan sepsis agar terapi dapat dikembangkan untuk meningkatkan hasil pengobatan (de Caestecker *et al.*, 2015; Rabb *et al.*, 2016).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif untuk mengungkap gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) model sepsis yang diinduksi *E. coli* yang diberikan efek preventif ciprofloxacin. Penelitian dilakukan di dua tempat, yaitu di Laboratorium Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Kediri untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan dan pembedahan mencit. Selanjutnya proses pembuatan preparat histologi, pewarnaan hematoxilin eosin (HE), pengamatan preparat histologi dan dokumentasi preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: mencit jantan strain Balb/c umur 4-8 minggu dengan bobot 20-30 g sebanyak 24 ekor berasal dari Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) Surabaya, Girabloc Ciprofloxacin HCl 500 g (PT. Hexpharm Jaya, Bekasi, Indonesia), isolat klinis (*wild type*) *E. coli* dengan dosis 1×10^5 CFU/mL (Nano Laboratory), pakan mencit, serbuk kayu (kawol), metanol, giemsa, aquades, larutan H₂CO (formaldehid) 37%, buffer formalin, sodium hidrogen fosfat dibasik (Na₂HPO₄) 6,5 g, aquadestilata 900 mL, *formaldehid* 37-40%), etanol 80%, etanol 95%, etanol absolut, larutan *clearing*, parafin.

Aklimatisasi Mencit

Mencit jantan ditimbang kemudian diletakkan di dalam kandang *polypropilane* standar dengan alas menggunakan serbuk kayu dan untuk diaklimatisasi dilakukan selama dua minggu. Alas kandang diganti setiap hari. Pakan yang diberikan dilunakkan dengan menggunakan air terlebih dahulu, kemudian dikepak, sehingga berbentuk lonjong, dengan bobot kurang lebih 90 g untuk tiap kandang yang berisi enam ekor mencit. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Pakan dan air minum diganti setiap hari. Mencit penelitian dibagi kedalam enam kelompok perlakuan setelah diaklimatisasi selama dua minggu.

Perlakuan pada Hewan Coba

Mencit-mencit yang telah diadaptasikan diberikan perlakuan selama 14 hari dengan variasi sebagai berikut: 1) mencit normal (N), 2) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif aquades) (K-), 3) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif ciprofloxacin) (K+).

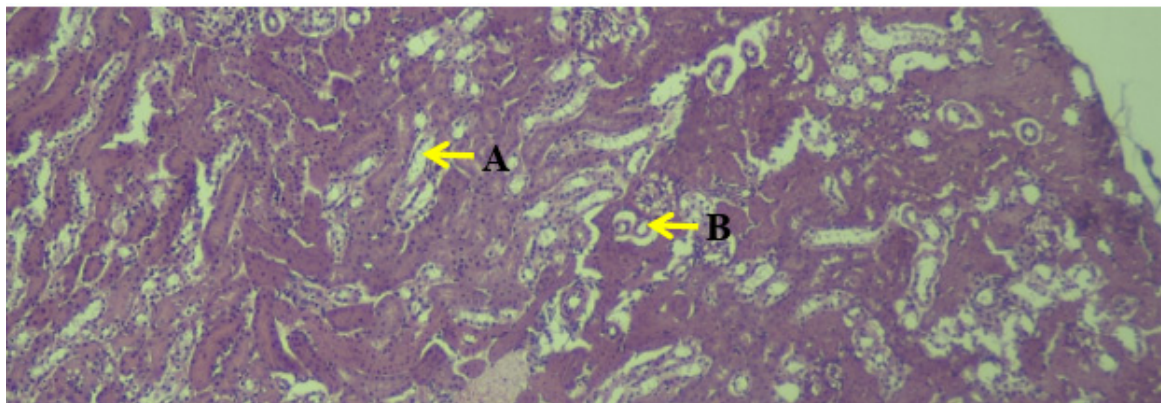
Mencit yang telah diberikan perlakuan kemudian diinjeksikan kedalam peritoniumnya bakteri *E. coli* dengan dosis 1×10^5 CFU/mL. Mencit setelah 24 jam pascapemaparan polimikrob sepsis memperlihatkan kejadian apoptosis, sehingga setelah 24 jam mencit dapat dikorbankan nyawanya (*sacrificed*). Jika mencit mati sebelum 24 jam, maka harus segera dilakukan bedah bankai untuk diambil ginjalnya agar tidak terjadi autolisis. Irisan organ yang diambil adalah pada bagian tengah, tepi kiri, dan kanan.

Pemrosesan dan Pengamatan Jaringan

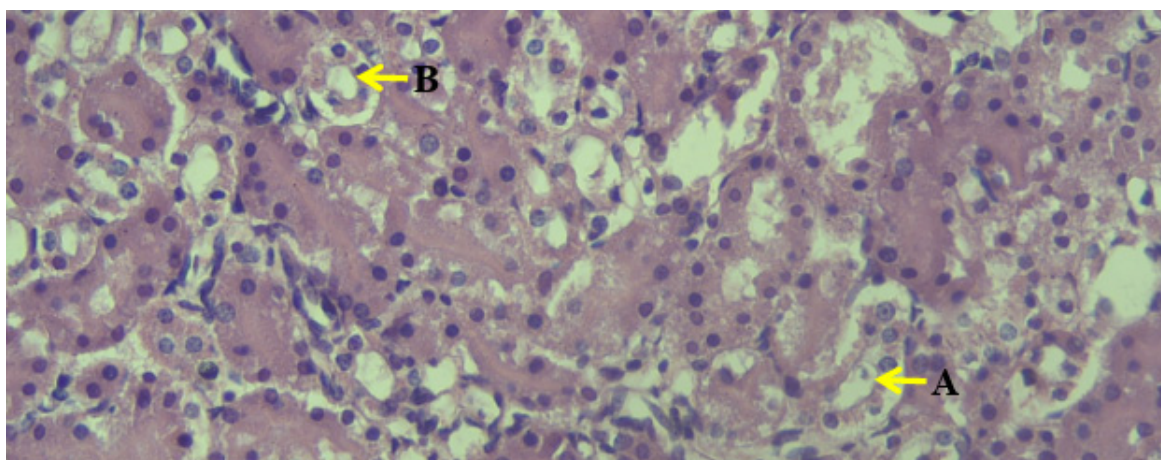
Jaringan organ ginjal difiksasi ke dalam *buffer* formalin dengan tujuan untuk mempertahankan morfologi sel seperti semula guna mencegah terjadinya autolisis dan untuk mencegah pertumbuhan bakteri atau jamur. Tahap selanjutnya adalah pembuatan blok parafin. Setelah dibuat blok parafin, kemudian jaringan dilakukan penyayatan jaringan dengan menggunakan *rotary microtome* atau *sliding microtome* dengan ketebalan 4-6 mikron. Sayatan yang diperoleh kemudian diambil dengan kuas yang telah dibasahi dengan air dan diletakkan pada permukaan penangas air/*waterbath*. Jaringan yang mengembang kemudian diambil dengan *object glass* yang telah dilapisi dengan perekat jaringan, lalu dikeringkan pada suhu kamar dan dimasukkan ke dalam *oven* semalam. Pengamatan histopatologi pada ginjal mencit dilakukan dengan pengecatan menggunakan hematoxilin eosin (HE).

HASIL DAN PEMBAHASAN

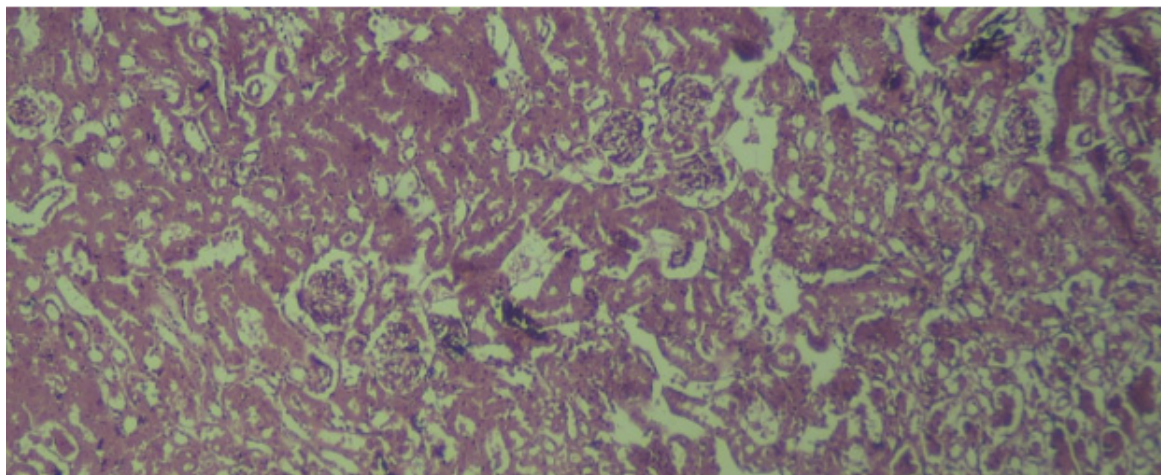
Pengamatan gambaran histopatologi terhadap ginjal mencit (*Mus musculus*) model sepsis yang diinduksi *E. coli* yang diberikan efek preventif ciprofloxacin dengan perlakuan 1) mencit normal (N), 2) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif aquades) (K-), 3) mencit diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif ciprofloxacin) (K+) selama 14 hari menunjukkan adanya beberapa kerusakan struktur histopatologi tubulus ginjal kecuali pada kelompok 1 (N).



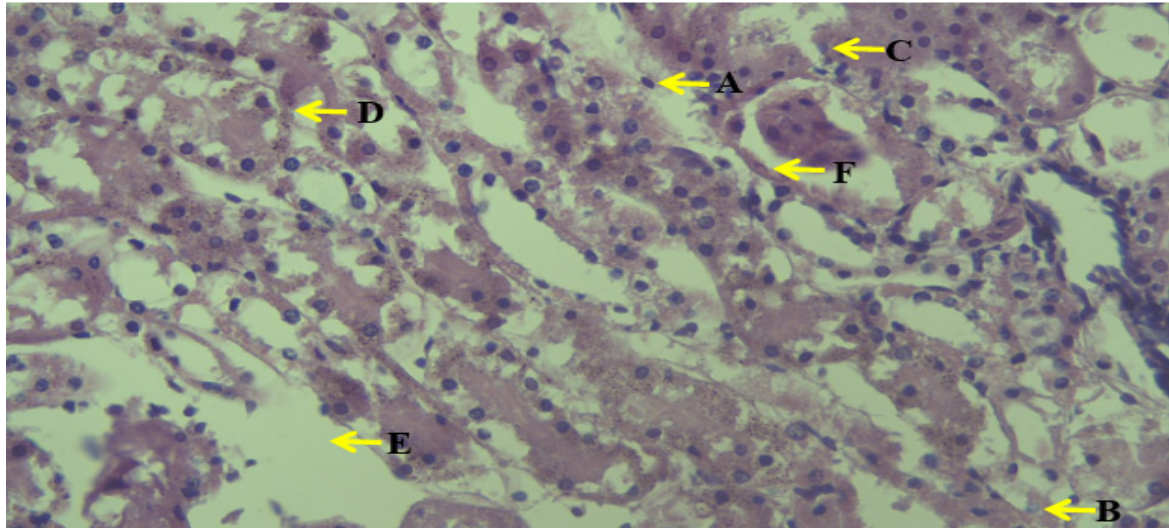
Gambar 1. Gambaran histopatologi ginjal mencit normal (perbesaran 100 kali dengan pewarnaan HE). Keterangan: A. Tubulus proksimal, B. Tubulus distal



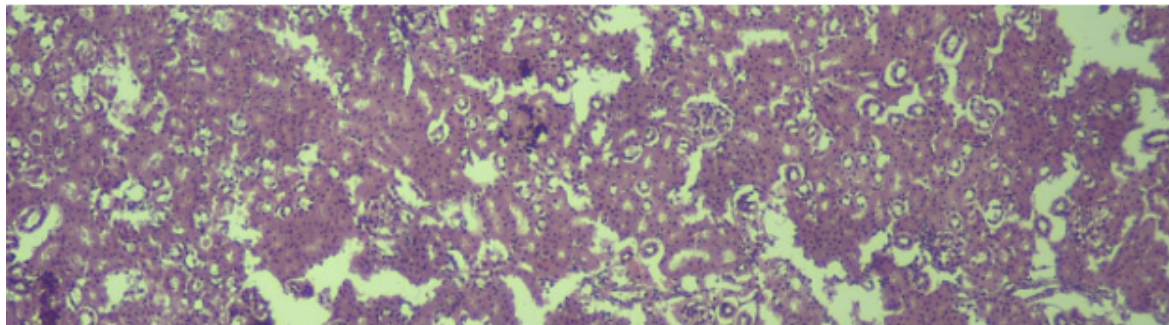
Gambar 2. Gambaran histopatologi ginjal mencit normal (perbesaran 400 kali dengan pewarnaan HE). Keterangan: A. Tubulus proksimal, B. Tubulus distal



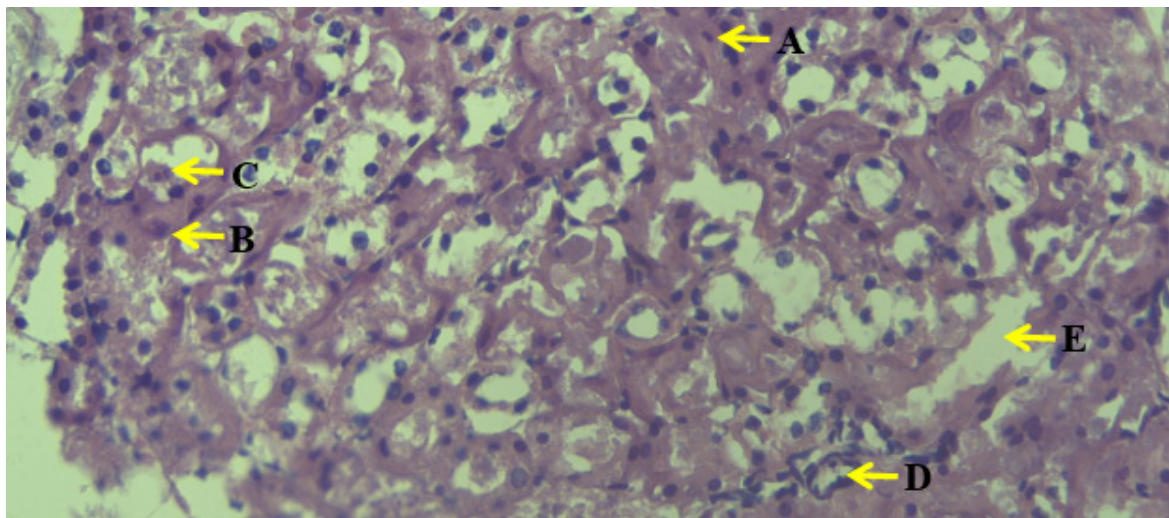
Gambar 3. Gambaran histopatologi ginjal mencit yang diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif aquades) selama 14 hari (perbesaran 100 kali dengan pewarnaan HE)



Gambar 4. Gambaran histopatologi ginjal mencit yang diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif aquades) selama 14 hari (perbesaran 400 kali dengan pewarnaan HE). Keterangan: A. piknosis, B. karioreksis, C. kariolisis, D. kongesti, E. nekrosis, dan F. perdarahan intratubular



Gambar 5. Gambaran histopatologi ginjal mencit yang diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif ciprofloxacin) selama 14 hari (perbesaran 100 kali dengan pewarnaan HE)



Gambar 6. Gambaran histopatologi ginjal mencit yang diinduksi dengan *E. coli* (dengan pemberian preventif ciprofloxacin) selama 14 hari (perbesaran 400× dengan pewarnaan HE). Keterangan: A. piknosis, B. karioreksis, C. kariolisis, D. kongesti, dan E. nekrosis

Struktur histopatologi kelompok mencit normal (Gambar 1 dan Gambar 2) tidak menunjukkan adanya kerusakan pada tubulus ginjal seperti kongesti, perdarahan inter-tubuler, piknosis, karioreksis, kariolisis dan nekrosis. Pada kelompok 2 (K-) (Gambar 3 dan Gambar 4) ditemukan adanya perdarahan inter-tubuler yang ditandai dengan perdarahan berlebih di ruang antar tubulus. Selain itu juga ditemukan perdarahan intra-tubuler disertai terjadinya piknosis (inti sel menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap), serta karioreksis yaitu hancur, membentuk fragmen kromatin yang menyebar. Pada kelompok 3 (K+) (Gambar 5 dan Gambar 6) ditemukan piknosis, kongesti, kariolisis, karioreksis dan nekrosis, tetapi perdarahan intra tubulr tidak ditemukan.

Hasil penelitian ini menguatkan temuan penelitian sepsis pada hewan dan manusia baru-baru ini yang menunjukkan bahwa sepsis dengan cedera ginjal akut tidak dapat dijelaskan hanya dengan perubahan morfologis. Studi oleh Takasu *et al.* (2013) menunjukkan bahwa cedera tubuler ginjal pada sepsis adalah umum tetapi fokal. Penelitian ini menemukan kerusakan tubulus ginjal tidak terdistribusi secara merata dan terbatas pada sepsis dengan cedera ginjal akut. Temuan ini sejalan dengan studi sebelumnya dengan premis bahwa kerusakan tubuler tidak dapat sepenuhnya menjelaskan gangguan fungsi ginjal yang sering ditemukan pada pasien sepsis (Takasu *et al.*, 2013). Selain itu, temuan ini juga sejalan dengan yang ditemukan oleh Lerolle *et al.* (2010) yang menunjukkan bahwa cedera ginjal akut pada 19 pasien dengan sepsis dapat dikaitkan dengan infiltrasi intens glomeruli, kapiler interstisial dan kadang-kadang lumen tubular oleh leukosit monositik yang dominan. Trombosis mikrovaskuler lokal, kemungkinan akibat aliran rendah dan/atau aktivasi endotel mikrovaskuler (Enestrom *et al.*, 1988), mungkin merupakan mekanisme lain yang menyebarkan kerusakan jaringan pada sepsis dengan cedera ginjal akut. Kekuatan penelitian ini terletak pada pengambilan awal jaringan biopsi ginjal secara langsung setelah kematian, sehingga dapat meminimalkan pengaruh autolisis pada analisis selanjutnya. Penelitian ini dan sebelumnya serta oleh para peneliti lain (Aslan *et al.*, 2014; Aslan *et al.*, 2017; Marx *et al.*, 2018; Malone *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa kelayakan analisis imunohistokimia, mRNA, proteomik, dan metabolomik lanjutan. Ketika diintegrasikan, kumpulan data yang dihasilkan memungkinkan dilakukan karakterisasi yang

lebih baik dan ekstensif, di samping membuka jalan menuju pengobatan yang presisi dan bahkan personalisasi pada sepsis dengan cedera ginjal akut.

SIMPULAN

Struktur histopatologi mencit normal tidak menunjukkan adanya kerusakan pada tubulus ginjal, sedangkan pada mencit yang diinduksi *E. coli* ditemukan adanya perdarahan inter-tubular. Selain ditemukan perdarahan intra-tubular juga disertai terjadinya piknosis, juga terjadi karioreksis. Pada mencit yang diinduksi dengan *E. coli* disertai dengan pemberian preventif ciprofloxacin ditemukan adanya piknosis, kongesti, kariolisis, karioreksis dan nekrosis. Tetapi, perdarahan intra tubuler tidak ditemukan.

SARAN

Perlu dilakukan pengamatan histopatologi pada organ yang lain, seperti hepar, limpa, dan lain-lain, agar dapat diketahui pengaruh sepsis terhadap organ tersebut. Selain itu juga perlu dilakukan pengamatan terhadap kadar dan ekspresi sitokin proinflamasi dan *marker* apoptosis agar dapat digunakan sebagai data pendukung mengenai apoptosis pada sepsis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian, Pengembangan, dan Pengabdian Masyarakat (LP3M) Universitas Kadiri yang telah memberikan pendanaan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. 2001. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29: 1303–1310.
- Annane D, Bellissant E, Cavillon JM. 2005. Septic shock. *Lancet* 365: 63–78.
- Aslan A, Jongman RM, Moser J, Stegeman CA, van Goor H, Diepstra A, Heuvel MV van Den, Heeringa P, Molema G, Zijlstra JG, Matijs va Meurs. 2014. The renal angiopoietin/Tie2 system in lethal

- human sepsis. *Crit Care* 18: 423.
- Aslan A, van Meurs M, Moser J, Popa ER, Jongman RM, Zwieters PJ, Molema G, Zijlstra JG. 2017. Organ-specific differences in endothelial permeability-regulating molecular responses in mouse and human sepsis. *Shock* 48: 69–77.
- Berg RD. 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends in Microbiology* 4(11): 430-435.
- Biran D, Ron EZ. 2018. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 416: 149-161.
- de Caestecker M., Humphreys BD, Liu KD, Fissell WH, Cerda J, Nolin TD, Askenazi D, Mour G,¹ Harrell FE, Jr., Pullen N, Okusa MD, Faubel S. 2015. Bridging translation by improving preclinical study design in AKI. *J Am Soc Nephrol* 26: 2905–2916.
- Dewitte A, Coquin J, Meyssignac B, Joannes-Boyau O, Fleureau C, Roze H, Ripoché J, Janvier G, Combe C, Ouattara A. 2012. Doppler resistive index to reflect regulation of renal vascular tone during sepsis and acute kidney injury. *Crit Care* 16(5): R165.
- Enestrom S, Druid H, Rammer L. 1988. Fibrin deposition in the kidney in post ischaemic renal damage. *Br J Exp Pathol* 69: 387–394.
- Forni LG, Joannidis M. 2017. Blood pressure deficits in acute kidney injury: not all about the mean arterial pressure? *Crit Care* 21: 102.
- Foxman B. 2010. The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology* 7(12): 653-660.
- Gordon DM, Cowling A. (2003). The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: Host and geographic effects *Microbiology* 149(Pt 12): 3575-3586.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2(2): 123-140.
- Kim KS. 2012. Current concepts on the pathogenesis of *Escherichia coli* meningitis: Implications for therapy and prevention. *Current Opinion in Infectious Diseases* 25(3): 273-278.
- Kiryluk K, Bombback AS, Cheng YL, Xu K, Camara PG, Rabadan R, et al. 2018. Precision medicine for acute kidney injury (AKI): redefining AKI by agnostic kidney tissue interrogation and genetics. *Semin Nephrol* 38: 40–51.
- Langenberg C, Bagshaw SM, May CN, Bellomo R. 2008. The histopathology of septic acute kidney injury: a systematic review. *Crit Care* 12(2): R38.
- Leimbach A, Hacker J, Dobrindt U. 2013. *E. coli* as an all-rounder: The thin line between commensalism and pathogenicity. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 358: 3-32.
- Lerolle N, Nochy D, Guerot E, Bruneval P, Fagon JY, Diehl JL, Hill G. 2010. Histopathology of septic shock induced acute kidney injury: apoptosis and leukocytic infiltration. *Intensive Care Med* 36: 471–478.
- Malone AF, Wu H, Humphreys BD. 2018. Bringing renal biopsy interpretation into the molecular age with single-cell RNA sequencing. *Semin Nephrol* 38: 31–39.
- Marx D, Metzger J, Pejchinovski M, Gil RB, Frantzi M, Latosinska A, Belczacka I, Heinzmann S, Husi H, Zoidakis J, Klingele M, Herget-Rosenthal S. 2018. Proteomics and metabolomics for AKI diagnosis. *Semin Nephrol* 38: 63–87.
- Mendoza-Palomar N, Balasch-Carulla M, González-Di Lauro S, Céspedes MC, Andreu A, Frick MA, Linde MA, Soler-Palacin P. 2017. *Escherichia coli* early-onset sepsis: Trends over two decades. *European Journal of Pediatrics* 9: 1227-1234.
- Moeckel GW. 2018. Pathologic perspectives on acute tubular injury assessment in the kidney biopsy. *Semin Nephrol* 38: 21–30.
- Mora-Rillo M, Fernández-Romero N, Navarro-San Francisco C, Díez Sebastián J, Romero-Gómez MP, Fernández FA, López AJR, Mingorance J. 2015. Impact of virulence genes on sepsis severity and survival in *Escherichia coli* bacteremia. *Virulence* (1): 93-100.
- Payen D, Lukaszewicz AC, Legrand M, Gayat E, Faivre V, Megarbane B, et al. (2012). A multicentre study of acute

- kidney injury in severe sepsis and septic shock: association with inflammatory phenotype and HLA genotype. *PLoS ONE*, 7:e35838.
- Rabb H, Griffin MD, McKay DB, Swaminathan S, Pickkers P, Rosner MH, et al. (2016). Inflammation in AKI: Current Understanding, Key Questions, and Knowledge Gaps. *J Am Soc Nephrol.*, 27:371–9.
- Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. 1995. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *J Am Med Assoc* 273: 117–123.
- Su F, Wang Z, Cai Y, Rogiers P, Vincent JL. 2007. Fluid resuscitation in severe sepsis and septic shock: albumin, hydroxyethyl starch, gelatin or Ringer's lactate—does it really make a difference? *Shock* 27: 520–526.
- Takasu O, Gaut JP, Watanabe E, To K, Fagley RE, Sato B, Jarman S, Efimov IR, Janks DL, Srivastava A, Bhayani SB, Drewry A, Swanson PE, Hotchkiss RS. 2013. Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 187: 509–517.
- Waikar SS, McMahon GM. 2018. Expanding the role for kidney biopsies in acute kidney injury. *Semin Nephrol* 38: 12–20.
- Wasiński B. 2019. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*-threat connected with food-borne infections. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 4: 532-537.