

4.5. Metode Pengumpulan Sampel	35
4.5.1. Kriteria inklusi	35
4.5.2. Kriteria eksklusi	36
4.6. Bahan Penelitian dan Alat Penelitian	36
4.7. Teknik dan Analisis Data	36
4.7.1. Kriteria objektif	36
4.7.2. Definisi operasional	36
4.7.3. Analisa data	37
4.8. Alur Penelitian	38

BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian	
5.1.1. Karakteristik pasien	39
5.1.2. Hubungan NLR terhadap diagnosa akhir	40
5.1.3. Hubungan MLR terhadap diagnosa akhir	41
5.1.4. Hubungan PLR terhadap diagnosa akhir	42
5.2. Pembahasan	42
5.2.1. Hubungan NLR terhadap diagnosa akhir	43
5.2.2. Hubungan MLR terhadap diagnosa akhir	52
5.2.3. Hubungan PLR terhadap diagnosa akhir	55
5.3. Kelemahan Penelitian	57

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan	59
6.2. Saran	59

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian	39
Tabel 2. Frekuensi diagnosis akhir	40
Tabel 3. Rata-rata NLR berdasarkan diagnosa akhir	41
Tabel 4. Rata-rata MLR berdasarkan diagnosa akhir	42

Tabel 5. Rata-rata PLR berdasarkan akhir	43
Gambar 1. Morfologi neutrofil normal yang dilihat (A) dengan menggunakan mikroskop elektron dan (B) dengan mikroskop cahaya	12
Gambar 2. Adesi neutrofil pada endotel vaskular	15
Gambar 3. Neutrofil melakukan diapedesis melewati endotel vaskular	16
Gambar 4. Komposisi <i>T-cell receptors</i> (TCR) dan <i>B-cell receptors</i> (BCR) ..	20
Gambar 5. Tahapan proses fagositosis	24
Gambar 6. Platelet memainkan sejumlah peran dalam inflamasi dan respon imun	26
Gambar 7. Sinyal 0 memainkan peranan yang penting pada autofagi dan imunitas	28

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	<i>analysis of varience</i>
AR	arthritis reumatoid
AUC	<i>area under curve</i>
BCR	<i>B-cell receptors</i>

BlyS	<i>B-lymphocyte stimulator</i>
BUN	<i>blood urea nitrogen</i>
CI	<i>confidence interval</i>
CNTF	faktor siliari neutropik
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i>
COX	siklooksigenase
CRP	<i>c-reactive protein</i>
DAMP	<i>damage-associated molecular pattern molecules</i>
DHF	<i>dengue hemorrhagic fever</i>
ESR	<i>erythrocyte sedimentation rate</i>
FIM	<i>factor increasing monocytopoiesis</i>
GM-CSF	<i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GRO- α	<i>growth-related oncogene-α</i>
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
ICAM	<i>intercellular adhesion molecules</i>
IFN- γ	interferon gamma
IGD	instalasi gawat darurat
IL	interleukin
LT	leukotrin
MCP-1	<i>monocyte chemotactic protein</i>
M-CSF	<i>macrophage colony-stimulating factor</i>
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MLR	<i>monocyte-lymphocyte ratio</i>
MMP	matriks metaloproteinase
MMP-3	stromelisin
MMP-8	<i>neutrophil collagenase-2</i>
MMP-9	gelatinase B

MMP-25	leukolisin
MPO	mieloperoksidase
NLR	<i>neutrophil-to-lymphocyte ratio</i>
NK	<i>natural killer</i>
NST	nukleus traktus solitarius
PAMP	<i>pathogen-associated molecular patterns</i>
PECAM	<i>platelet-endothelial cell adhesion molecules</i>
PPPF	<i>preformed pyrogenic factors</i>
PG	prostaglandin
PLR	<i>platelet-lymphocyte ratio</i>
PMN	<i>polymorphonuclear neutrophil</i>
PRR	<i>pattern recognition receptors</i>
RSUP	rumah sakit umum pusat
ROC	<i>receiver operating characteristic</i>
SCF	<i>stem cell factor</i>
SLE	<i>systemic lupus erythematosus</i>
SPSS	<i>statistical package for the social sciences</i>
TGF	<i>tumour growth factor</i>
TCR	<i>T-cell receptor</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TRAIL	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>

ABSTRAK

Tri Yulia Rini : Hubungan Antara Demam Causa Infeksi Virus Dan Bakteri Terhadap Nilai Neutrophil-lymphocyte Ratio (NLR), Monocyte-Lymphocyte Ratio(MLR), dan Platelet-Lymphocyte Ratio (PLR) Di bimbing oleh Satriawan Abadi dan Sudirman Katu

Latar Belakang: Infeksi bakteri dan infeksi virus seringkali sulit untuk dibedakan dalam praktik klinis rutin. Penanda biologis yang berasal dari pemeriksaan rutin sangat diperlukan

untuk mempersingkat waktu dalam mendiagnosa dan memberikan terapi. *Neutrophil-lymphocyte ratio* (NLR), *monocyte-lymphocyte ratio* (MLR), dan *platelet-lymphocyte ratio* (PLR) belakangan ini dipertimbangkan penggunaannya dalam membedakan jenis infeksi pada pasien dengan demam.

Metode: Penelitian menggunakan desain penelitian kohort prospektif terhadap pasien demam yang masuk ke unit gawat darurat. NLR, MLR, dan PLR awal akan diperiksa dan dikategorisasi berdasarkan jenis infeksi yang dialami. Uji ANOVA dan *t-test* digunakan untuk mengetahui perbedaan diantara kelompok penelitian dengan nilai $\alpha = 0,05$.

Hasil : sebanyak 207 pasien (laki-laki 92 [44%]) dengan demam dilibatkan dalam penelitian ini dengan rata-rata umur sekitar $45,6 \pm 14,6$ tahun. Mayoritas pasien dengan gejala demam disebabkan oleh infeksi bakteri. Infeksi bakteri (infeksi saluran kemih, kolesistitis akut, dan pneumonia) secara signifikan memiliki nilai NLR dan MLR yang tinggi dibandingkan infeksi virus ($P < 0,001$). Sementara, nilai PLR secara umum ditemukan lebih rendah pada kasus dengan infeksi virus.

Kesimpulan: Infeksi bakteri sangat berkaitan dengan nilai NLR dan MLR yang tinggi, sementara PLR secara umum lebih rendah pada kasus infeksi virus.

Kata kunci : *neutrofil, limfosit, monosit, trombosit, demam*

ABSTRACT

Tri Yulia Rini : Association of bacterial/viral infections with neutrophil-lymphocyte ratio, monocyte-lymphocyte ratio, and platelet-lymphocyte ratio in patients presenting with fever (supervised by Satriawan Abadi and Sudirman Katu)

Background of the Study: Bacterial and Viral infections are often hard to be distinguished in daily clinical practice. Biological markers obtained from a routine examination play an

important role to minimize time in providing diagnose and giving therapy. Recently, the use of Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), monocyte-lymphocyte ratio (MLR), and platelet-lymphocyte ratio (PLR) is greatly considered to differentiate types of infection found in the patients presenting with fever.

Method: This study uses prospective cohort study design and involves patients presenting with fever who are admitted to the ICU. The initial NLR, MLR, and PLR is examined and categorized into types of infection found. The ANOVA test and t-test are performed to find out the difference among study groups with the value of $\alpha = 0,05$.

Result : This study involves 207 patients (92 male patients [44%]) presenting with fever with the average age of $45,6 \pm 14,6$ years old. The majority of cases (135 cases [66,5%]) in patients with fever results from bacterial infection; The study also finds 47 cases (34,8%) of typhoid fever and 30 cases (22,2%) of pulmonary tuberculosis. Dengue hemorrhagic fever (DHF) is the most commonly found viral infection with 52 cases (76,4%). The significant diagnose of bacterial infection shows higher value of NLR and MLR than that of viral infection ($P < 0,001$); Urinary tract infection has the highest value of NLR and MLR, amounting to $9,4 \pm 3,6$ and $0,23 \pm 0,20$, respectively. In general, the value of PLR is lower than that of viral infection ($P < 0,001$).

Conclusion: Neutrophil-lymphocyte ratio, MLR and PLR have benefit to predict diagnosis for the patients presenting with a fever. Bacterial infection is associated with the high value of NLR and MLR, and PLR generally has a lower value in viral infection cases.

Key Words: *neutrophil, lymphocyte, monocyte, platelet, fever, bacteria, virus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Pada penanganan pasien-pasien yang mengalami cedera atau gangguan di unit gawat darurat sangat penting untuk mendeteksi pasien yang berada pada risiko luaran yang buruk ataupun letal. Penentu utama luaran pasien tersebut adalah beranya cedera (trauma, infeksi) serta respon imunoinflamatorik. Sulit untuk menemukan penanda biologi respon imun pada sejumlah penyakit, terutama pada penyakit kritis, tanpa memperhatikan penyebabnya, dengan nilai prediktif yang baik terhadap luaran karena terdapat mekanisme yang luas dan kompleks pada mediator terkait imun tersebut. Banyak diantara penanda biologis yang telah diteleiti dalam lingkungan klinis menunjukkan hasil yang tidak sesuai. Belakangan ini, beberapa parameter sederhana, yang berasal dari pemeriksaan darah lengkap, telah dievaluasi sebagai penanda biologis potensial meski dengan hasil yang beragam dan belum ada konsesus yang menyinggung akurasi dan manfaat klinisnya sejauh ini, diantaranya adalah rasio neutrofil-limfosit (*neutrophil-to-lymphocyte ratio/NLR*), rasio monosit-limfosit (*monocyte-to-lymphocyte ratio/MLR*), dan, yang paling jarang, rasio trombosit-limfosit (*platelet-to-lymphocyte ratio/PLR*).^{1,2,3} Neutrofil, monosit, limfosit, dan platelet merupakan sejumlah komponen yang terlibat dalam proses inflamasi akibat infeksi, bakteri ataupun virus, sebagai pertahanan tubuh ataupun untuk mempertahankan hemostasis.^{4,5,6} Sehingga, perubahan jumlah pada komponen-komponen tersebut dapat ditemukan pada kondisi infeksi, yang pada beberapa penelitian memiliki makna yang mampu membedakan antara infeksi virus dan bakteri.^{2,3}

Yang sering ditemukan, tetapi tidak selalu, adalah hubungan antara infeksi bakteri dan leukositosis, dan adanya hubungan antara infeksi virus terhadap limfositosis.²

Secara umum, dalam penelitian yang ingin diajukan saat ini, kami akan memperluas analisa dengan menginvestigasi hubungan antara nilai NLR, MLR dan PLR pada pasien yang masuk dengan demam terhadap diagnosa akhir pasien yang dibatasi berdasarkan patogen yang menginfeksi, yakni infeksi bakteri dan infeksi virus.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah nilai NLR, MLR, dan PLR memiliki keterkaitan terhadap infeksi bakteri atau virus pada pasien dengan demam.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Menilai hubungan antara NLR, MLR, dan PLR terhadap diagnosis akhir, terkhusus infeksi bakteri atau virus, pada pasien dengan gejala demam di unit gawat darurat.

1.3.2. Tujuan khusus

- Menilai hubungan antara NLR terhadap infeksi bakteri atau virus.
- Menilai hubungan antara MLR terhadap infeksi bakteri atau virus.
- Menilai hubungan antara PLR terhadap infeksi bakteri atau virus.

1.4. Manfaat penelitian

Bila peranan nilai NLR, MLR, dan PLR pada pasien dengan demam dalam membedakan antara infeksi bakteri dan virus telah diketahui, maka hal ini akan :

- Dapat digunakan sebagai parameter biologis diagnostik pelengkap bersama sejumlah parameter lain untuk mendukung terlaksananya diagnosis yang segera.
- Dapat digunakan sebagai parameter biologis prognostik untuk menunjang tatalaksana yang dini selain untuk mencegah terjadinya kerusakan sekunder yang mungkin terjadi dan meningkatkan kualitas luaran.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Demam

Respon demam merupakan suatu pertanda infeksi atau keadaan inflamasi yang telah diketahui selama jutaan tahun. Temperatur demam sangat berkaitan dengan respon inflamasi yakni panas (kalor) yang merupakan salah satu dari tanda kardinal inflamasi, selain dengan nyeri (dolor), kemerahan (rubor), dan pembengkakan (tumor). Terdapat bukti yang sangat banyak yang menyebutkan bahwa peningkatan suhu 1 - 4°C suhu tubuh yang terjadi selama demam berkaitan dengan perbaikan masa hidup dan resolusi pada sejumlah infeksi. Namun, demam tidak selamanya bermanfaat, khususnya pada kasus inflamasi ekstrim, yang menurunkan suhu lebih baik dibandingkan peningkatan suhu tubuh yang dianggap sebagai mekanisme protektif.⁷

- **Definisi temperatur normal dan febris**

Akibat besarnya variasi temperatur tubuh terhadap sejumlah faktor, definisi temperatur tubuh yang febris masih menjadi kontroversi dengan sejumlah definisi yang bervariasi berdasarkan masing-masing penulis. Namun, sebagian besar peneliti setuju dengan suatu penelitian yang dalam penelitiannya menggunakan termometer yang telah terkalibrasi secara modern untuk mengukur 700 temperatur oral awal dari 148 dewasa sehat yang berada pada usia pertengahan dari sejumlah ras. Dalam penelitian tersebut, temperatur oral rata-rata adalah $36,8 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ ($98,2^{\circ}\text{F}$) dan temperatur tubuh menunjukkan suatu ritme sirkadian dengan 99th persentil populasi tersebut memiliki temperatur pagi maksimum (jam 06.00 AM) sebesar $37,2^{\circ}\text{C}$ dan temperatur sore maksimum (jam 04.00 PM) sebesar $37,7^{\circ}\text{C}$. Oleh karena itu, berdasarkan data penelitian tersebut, demam pada dewasa yang berusia pertengahan didefinisikan sebagai temperatur oral dini hari $> 37,2^{\circ}\text{C}$ ($> 99^{\circ}\text{F}$) atau temperatur $> 37,7^{\circ}\text{C}$ ($> 100^{\circ}\text{F}$) di seluruh waktu pengukuran.⁸ Sementara itu berdasarkan konsensus penanganan gangguan febris yang diterbitkan oleh sejumlah pihak yang terkait seperti *World Health Organization* (WHO), dan *Society of Critical Care Medicine* dan *Infectious Disease Society of America* (IDSA), temperatur rektal $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ($100,4^{\circ}\text{F}$) atau temperatur aksila $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ($99,5^{\circ}\text{F}$) menunjukkan kondisi demam pada orang dewasa dan anak-anak.⁹

Pada pasien geriatri (> 65 tahun), yang nampaknya memiliki temperatur tubuh yang lebih rendah, IDSA mendefinisikan demam sebagai temperatur oral $> 100^{\circ}\text{F}$ ($37,8^{\circ}\text{C}$); atau temperatur oral yang berulang menunjukkan $> 99^{\circ}\text{F}$ ($37,2^{\circ}\text{C}$) atau temperatur rektal $> 99,5^{\circ}\text{F}$ ($37,5^{\circ}\text{C}$); atau (3) peningkatan temperatur $> 2^{\circ}\text{F}$ ($> 1,1^{\circ}\text{C}$) pada temperatur awal.⁹

- **Patofisiologi demam**

Pada demam titik keseimbangan termal bergeser ke tingkat yang lebih tinggi

sehingga suhu normal perifer dan sentral saat ini dirasakan sebagai sinyal suhu yang dingin oleh sirkuit termoregulator. Akibatnya, demam berbeda dari *heat stroke* dan hipertermia yakni suhu tubuh meningkat tanpa adanya peningkatan yang sesuai dengan titik keseimbangan termal.⁹

Sepsis ditemukan sebagai penyebab demam terbanyak pada pasien yang dirawat di rumah sakit, selain malignansi, iskemik jaringan, dan reaksi obat-obatan, dengan persentase yang lebih kecil. Demam neurogenik, dan demam yang terkait endokrinopati, jarang ditemukan.¹⁰

Secara umum, demam merupakan suatu pertanda infeksi atau penyakit-penyakit inflamasi. Demam ditimbulkan oleh akumulasi dari kerja dari sejumlah respon autonomik, seperti vasokonstriksi perifer dan penurunan pengeluaran keringan, penurunan kehilangan panas tubuh, dan menggigil, ataupun tanpa menggigil.¹¹ Inisiasi, manifestasi dan regulasi respon demam bergantung pada peranan pirogenik dan anti-piretik dari sejumlah substansi eksogen dan endogen. Meskipun pirogen secara langsung dan tidak langsung menyebabkan demam, kriogen mencegah peningkatan suhu yang berlebihan. Keseimbangan dalam interaksi antara pirogen dan kriogen merupakan penentu tinggi dan durasi respon demam terhadap setiap adanya permasalahan imun.⁹

Pirogen. Pirogen diklasifikasikan menjadi pirogen eksogen (dihasilkan di luar pejamu) dan endogen (dihasilkan oleh pejamu) berdasarkan lokasi produksi pirogen. Pirogen eksogen, selalu, bagian atau keseluruhan mikroorganisme atau produk mikroorganisme seperti toksin. Komponen dinding sel bakteri gram negatif – lipopolisakarida (LPS) masih merupakan pirogen eksogen yang paling banyak diteliti dan sebagian besar data respon demam saat ini berdasarkan penelitian yang menggunakan LPS sebagai agen pirogenik. Pirogen eksogen lain yang signifikan

secara klinis diantaranya muramil dipeptidasi – kandungan dinding sel mikroorganisme, dan enterotoksin *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus* grup A dan B yang seluruhnya disebut dengan superantigen.⁹

Pirogen endogen umumnya sitokin pirogenik diantaranya interleukin (IL)-6, IL-1, interferon gamma (IFN- γ) dan faktor siliari neurotropik (CNTF) dan *tumour necrosis factor* (TNF- α). Pirogen endogen dihasilkan oleh sel-sel imun seperti neutrofil, makrofag dan limfosit serta sel-sel endotelial, astrosit dan sel glia sebagai respon terhadap pirogen eksogen. Beberapa substansi kompleks antibodi-antigen, asam empedu inflamatori, komplemen dan sejumlah molekul turunan dari limfosit dapat berperan sebagai pirogen tanpa induksi pirogen eksogen.⁸

Kriogen. Kriogen diantaranya adalah sitokin anti-inflamasi (misalnya, IL-10), hormon (misalnya, *α -melanocyte stimulating hormone*, *corticotrophin relasing hormon* dan kortikotropin) dan sejumlah produk neuroendokrin lain (misalnya, neuropeptida Y, bombesin, dan tiroliberin), sitokrom P-450 (P-450), dan lain-lain. Kriogen tersebut akan meningkatkan efek anti-piretik dengan menghambat sintesis sitokin pirogenik (misalnya, glukokortikoid), menghambat reseptor sitokin (misalnya, reseptor antagonis IL-1), dan meningkatkan kehilangan panas tubuh melalui peningkatan sensitivitas neuron yang sensitif terhadap panas (yakni, bombesin), selain mekanisme yang lain. Sistem antipiretik endogen ini akan mencegah pajamu untuk menghadapi dampak destruktif demam.⁹

Alur demam. Sinyal demam dibawa oleh pirogen eksogen dan endogen yang pada akhirnya menyebabkan pergeseran sirkuit termoregulasi melalui dua alur, yang disebut alur humoral dan alur neural.⁹

i. Alur humoral

Pada alur ini, sinyal demam dibawa oleh komponen produk mikroba yang

disebut *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) atau sitokin pirogen. PAMPs dari mikroorganisme di sirkulasi, misalnya LPS gram negatif, diketahui akan berikatan dengan *toll like receptor 4* (TLR-4) pada sejumlah sel. Dengan ikatan dan aktivasi TLR-4 yang berada pada kapiler yang mengalami fenestrasi pada organ sirkumventrikula pada sawar darah otak, ikatan tersebut akan menyebabkan pelepasan *prostaglandin E₂* (PGE₂) yang berasal dari alur asam arakidonat pada membran sitoplasmik. PGE₂ merupakan molekul berukuran kecil yang sangat mudah berdifusi pada sawar darah otak, berikatan dengan reseptor PGE₂ (reseptor EP₃) yang spesifik pada area preoptik dan mengaktivasi neuron termal pada hipotalamus anterior untuk meningkatkan titik keseimbangan termal. Masih belum jelas apakah produk mikroba juga dapat menyebabkan peningkatan titik keseimbangan termal melalui pengaruh langsung ke otak.⁹

Meskipun PGE₂ sangat penting dalam respon demam, sejumlah sitokin dan banyak mediator inflamasi lainnya dapat mengaktivasi respon febril. Aktivasi neuron termal secara langsung tanpa adanya keterkaitan PGE₂ dilakukan oleh sitokin yang mungkin bertanggung jawab terhadap hiperpireksia yang terlihat pada infeksi sistem saraf pusat dan hemoragik. Pada kondisi-kondisi ini, sifat anti-piretik sistem saraf pusat akan terganggu, menyebabkan peningkatan suhu tubuh secara tidak teratur. Contoh mediator inflamatorik, selain PGE₂, yang menggeser titik keseimbangan termal diantaranya, bradikinin, *corticotropin releasing hormone*, nitrik oksida, MIP-1, IL-6, dan IL-8 *preformed pyrogenic factors* (PFPP), substansi P dan endotelin-1.⁹

ii. Alur neural

Sinyal perifer demam dapat berhubungan dengan sistem saraf pusat melalui saraf perifer seperti nervus kutaneus sensoris dan nervus vagus. Aktivasi alur

neural dipercayamenjadi mekanisme lain demam terinisiasi.⁹

Saat ini telah dipertimbangkan bahwa pembentukan PGE secara lokal pada lokasi inflamasi berperan terhadap timbulnya demam melalui aktivasi nervus kutaneus yang sensitif terhadap dingin, yang pada gilirannya mengirimkan sinyal demam kepada bagian otak yang bertanggung jawab terhadap timbulnya demam. Transmisi sinyal demam melalui nervus vagus dilakukan melalui alur yang lebih kompleks. Pirogen yang bersirkulasi seperti LPS mengaktifkan komplemen dan produk komplemen pada gilirannya menstimulasi sel Kupffer hepar untuk memproduksi mediator-mediator endogen termasuk sitokin pirogenik. Sitokin-sitokin ini mengaktifkan nervus vagus cabang hepatic yang akan mentransmisikan sinyal menuju proyeksi sentral nervus vagus di dalam nukleus traktus solitarius (NST). Dari NST, sinyal diproses menuju are preoptik dan hipotalamus melalui berkas noradrenergik ventral, yang menyebabkan pelepasan norepinefrin intrapreoptik.⁹

Norepinefrin memediasi alur vagal melalui peningkatan suhu inti tubuh. Pertama melalui α_1 -*adrenoreceptor-mediated*, kerja cepat, dan tidak bergantung pada PGE₂, sementara yang kedua α_2 -*AR-mediated*, lambat, dan bergantung pada PGE₂.²

2.2. Neutrofil

Neutrofil (*polymorphonuclear neutrophil/PMN*) termasuk ke dalam leukosit polimorfonuklear, yang secara hematopoetik diturunkan dari sel yang menyediakan gambaran nukleus multilobus dan sangat granula intrasitoplasmik yang sangat berkembang (oleh karena itu istilah lainnya adalah granulosit).¹² Neutrofil selalu dianggap sebagai suatu sel yang memiliki masa hidup yang singkat dengan waktu paruh di sirkulasi berkisar 8 jam pada manusia.¹³

Neutrofil merupakan lini pertama pertahanan tubuh terhadap paparan agen invasif dan memiliki jenis sel yang terlibat dalam inflamasi akut dan sejumlah bentuk inflamasi kronik. Neutrofil merupakan leukosit yang paling banyak ditemukan pada aliran darah, biasanya menyusun lebih dari 50% dari seluruh leukosit di aliran darah. Neutrofil dapat dianggap sebagai sel pengawas yang menyisir seluruh aliran darah, memindai infeksi-infeksi jaringan atau keadaan inflamasi lainnya. Sayangnya, kemampuan neutrofil dalam menghancurkan organisme asing sebanding dengan dampak penghancuran jaringan yang dihasilkan.¹²

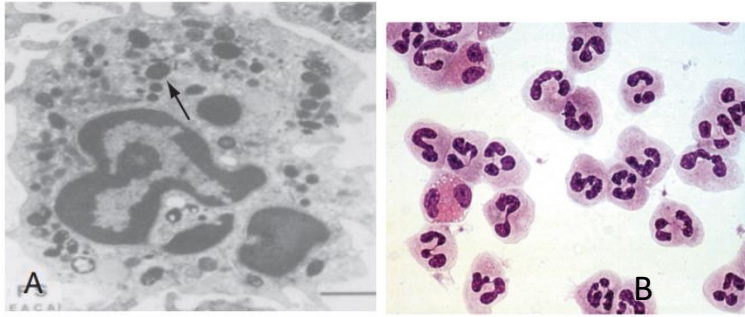
- Asal dan maturasi

Neutrofil secara terus menerus dihasilkan di dalam sumsum tulang dari prekursor mieloid. Produksi harian dapat mencapai 2×10^{11} sel. Proses ini dikontrol oleh *granulocyte colony stimulating factor* (G-CSF), yang diproduksi sebagai suatu respon terhadap interleukin-17A (IL-17-A) yang disintesis oleh sel T yang mengatur neutrofil. Selama inflamasi sejumlah neutrofil di jaringan akan meningkat, dan sejumlah kemokin akan mempertahankan jumlah sel yang siap untuk dilepaskan dari sumsum tulang.^{13,14}

Neutrofil yang telah menua atau apoptotik akan bersihkan oleh makrofag melalui hepar dan lien (yakni, sistem retikuloendotelial). Mekanisme ini diperkirakan akibat peningkatan molekul adesi P-selektin pada sel-sel Kupffer.¹²

- Morfologi dan kandungan neutrofil

Nukleus neutrofil cenderung memiliki lobus yang lebih banyak (biasanya tiga hingga lima) dibandingkan nukleus dari leukosit polimorf lainnya (**Gambar 1 dan 2**).¹²



Gambar 1. Morfologi neutrofil normal yang dilihat (A) dengan menggunakan mikroskop elektron dan (B) dengan mikroskop cahaya. Pada gambar A, perhatian nukleus multilobus dan granula yang sangat banyak. Setidaknya ada dua populasi granula yang dapat dibedakan. Granula yang lebih besar dan berwarna lebih gelap menunjukkan granula primer (azurofilik), sementara granula yang lebih kecil, yang sedikit lebih pucat umumnya granula sekunder dan mungkin juga termasuk granula gelatinase (panah menunjukkan granul primer)

(Shah B, Burg N, and Pilinger MH. Chapter 11 : Neutrophils in Kelley and Firestain's Textbook of Rheumatology 10th Ed. Elsevier. 2017)

Granul primer. Granul primer neutrofil terbentuk pertama kali, dan disebut juga sebagai granula azurofilik. Karakteristik granula azurofilik adalah adanya mieloperoxidase (MPO), suatu enzim yang mengkatalis pembentukan asam hipoklorus dari klorida ketika hidrogen peroksida (H_2O_2) tersedia. Adanya enzim ini dalam granula azurofilik akan menunjukkan gambaran khas berwarna kuning-hijau (yakni, pus).¹²

Granul sekunder. Berbeda dengan granul primer atau azurofilik, granul sekunder neutrofil tersusun dari suatu populasi yang membentuk gambaran unik pada neutrofil, sehingga disebut dengan granul spesifik. Granula spesifik memiliki sejumlah kesatuan protein yang terkait dengan membran, termasuk sitokrom, molekul sinyal, dan reseptor. Salah satu famili proteinase penting yang ditemukan pada granula spesifik neutrofil adalah metaloproteinase matriks (MMP). Aktivasi MMP menyebabkan neutrofil mampu untuk mengubah dan mendegradasi komponen integral membran bakteri yang telah terfagositosis. MMP neutrofil tidak terbatas pada penghancuran bakteri. Contohnya, MMP juga penting dalam ekstrasvasi dan diapedesis neutrofil.¹²

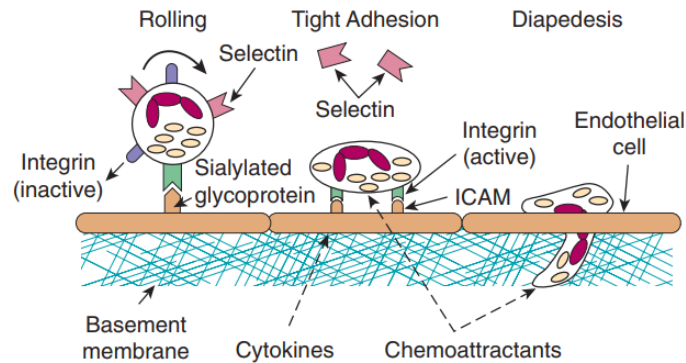
- Aktivasi dan sinyal transduksi neutrofil

Pada neutrofil di aliran darah, untuk melakukan penghancuran terhadap target asing pada perifer, pertama-tama neutrofil tersebut harus mampu merasakan adanya target tersebut di sekitarnya. Neutrofil kemudian harus menempel pada endotel yang teraktivasi melalui interaksi yang melibatkan molekul adesi dan reseptornya (*rolling* dan adesi). Setelah masuk ke pembuluh darah melewati endotel venula paska kapiler (diapedesis), neutrofil bermigrasi ke sumber sinyal (kemotaksis). Akhirnya, neutrofil menemui target, menelannya, dan menghancurkan target tersebut. Secara keseluruhan, proses yang memungkinkan neutrofil untuk berespon terhadap mekanisme tersebut disebut sebagai aktivasi neutrofil. Karena adanya potensi kerusakan jaringan yang dihasilkan, aktivasi neutrofil harus diatur sebaik mungkin. Pada lokasi inflamasi, sinyal inflamasi ataupun sinyal yang berasal dari bakteri akan ditemukan dalam jumlah yang sangat besar. Senyawa ini akan menstimulasi sel endotel disekitar inflamasi. Stimulan-stimulai tersebut, seperti lipopolisakarida yang berasal dari bakteri, serta sejumlah sitokin dan kemoatraktan, seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- α , IL-1 β dan IL-17, akan mendukung sel endotel memproduksi molekul adesi pada sisi lumen pembuluh darah, seperti selektin P, selektin E, dan beberapa integrin (**Gambar**).^{12,14,15}

- Fungsi neutrofil

Adesi. Salah satu aspek penting respon inflamasi adalah kemampuan neutrofil untuk melekat pada endotel pembuluh darah dalam persiapan untuk bergerak ke dalam jaringan (**Gambar 2**). Neutrofil yang terstimulasi juga memiliki kemampuan untuk melekat satu sama lain (agregasi homotipik), yang dapat membawa neutrofil mendekat kepada neutrofil yang telah melekat pada pembuluh darah atau mengkonsentrasikannya pada lokasi inflamasi. Beberapa famili molekul adesi terbukti

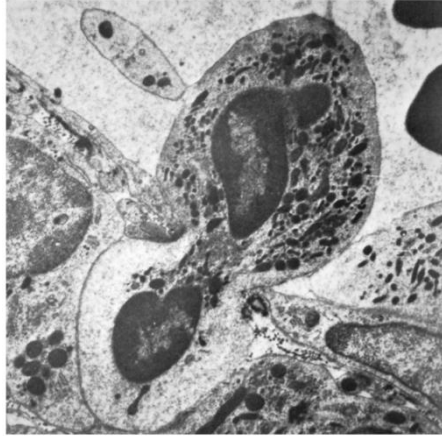
berperan terhadap proses ini, diantaranya selektin, integrin, *intercellular adhesion molecules* (ICAMs), dan glikoprotein.¹²



Gambar 2. Adesi neutrofil pada endotel vaskular. *Kiri, rolling.* Neutrofil yang tidak terstimulasi melekat dengan afinitas yang rendah terhadap endotel venul paska kapiler yang tidak terstimulasi, suatu proses yang dimediasi oleh interaksi selektin (pada neutrofil dan endotel dengan glikoprotein dan menyebabkan *rolling* neutrofil pada dinding pembuluh darah. *Tengah, adesi kuat.* Terpaparnya neutrofil terhadap kemoatraktan menyebabkan aktivasi integrin (CD11a/CD18, CD11b/CD18); paparan endotel terhadap sitokin menimbulkan ekspresi *intercellular adhesion molecules* (ICAM). Molekul-molekul tersebut berinteraksi, menyebabkan adesi yang kuat. Secara bersamaan selektin akan terlepas dari permukaan sel. *Kanan, diapedesis.* Neutrofil mengalami diapedesis, menembus endotel dan melewati membran basalis. Neutrofil pada aliran memiliki kapasitas untuk melekat dan bergerak keluar dari vaskular sebagai respon terhadap sinyal jaringan terhadap adanya inflamasi

(Shah B, Burg N, and Pilinger MH. Chapter 11 : Neutrophils in Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology 10th Ed. Elsevier. 2017)

Diapedesis. Mekanisme neutrofil menembus pembuluh darah masih belum jelas sepenuhnya. Salah satu hipotesis memberikan gambaran bahwa neutrofil menembus pembuluh darah melalui pori-pori yang berada di dalam sel endotel itu sendiri, tetapi neutrofil lebih umum menembus pembuluh darah melalui celah antara sel-sel endotel melalui *junction* sel (**Gambar 3**). Diapedesis memerlukan interaksi homotipik antara molekul adesi yang ditemukan pada neutrofil dan sel-sel endotel yang dikenal dengan *platelet-endothelial cell adhesion molecules* (PECAM).¹²



Gambar 3. Neutrofil melakukan diapedesis melewati endotel vaskular. **Kemotaksis.** Kemotaksis yang dituntun berdasarkan gradien molekul yang dicapai melalui ekstensi membran ruffles, diikuti oleh pergerakan membran ke arah substrat dan melepaskan tepi pada sisi lain menuju ke arah pergerakan. Pergerakan ini dilakukan melalui proses penyusunan sitoskeleton aktin setelah merasakan gradien kemotaktik melalui sinyal *G protein-coupled receptor* (GPCR) dan P13K

(Shah B, Burg N, and Pilinger MH. Chapter 11 : Neutrophils in Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology 10th Ed. Elsevier. 2017)

Fagositosis. Fagositosis terdiri dari proses pengenalan dan menelan partikel-partikel

yang berukuran lebih besar dari 5 μm ke dalam vesikel membran plasma, yang dikenal dengan fagosom. Fagosit, termasuk neutrofil, mampu menelan patogen mikroba.¹⁶

Fagositosis dapat diaktivasi melalui proses pengenalan *pathogen-associated molecular patterns* (PAMP) oleh neutrofil secara langsung, yang merupakan motif molekul yang ditemukan pada bakteri atau virus (tetapi tidak umum pada sel-sel mamalia). PAMP dikenali oleh *Toll-like receptors* (TLR) dan *pattern recognition receptors* (PRR) lain. Neutrofil manusia mengekspresikan seluruh TLR kecuali TLR3, dan aktivasi TLR menstimulasi fagositosis melalui dukungan terhadap perubahan struktural dan konformasional.¹²

Degranulasi. Neutrofil harus mampu menghantarkan sejumlah substansi penting, diantaranya antimikroba, melalui aliran darah dan sewaktu-waktu mampu melepaskan substansi tersebut di waktu yang tepat. Tempat penyimpanan substansi tersebut merupakan suatu vesikel yang disebut granul, dan proses pelepasan dari substansi tersebut disebut dengan degranulasi. Granul dapat mengalami fusi dengan membran

plasma, dan mengalami degranulasi, ataupun mengalami fusi dengan vakuola fagositik untuk membentuk fagolisosom.^{12,14,17}

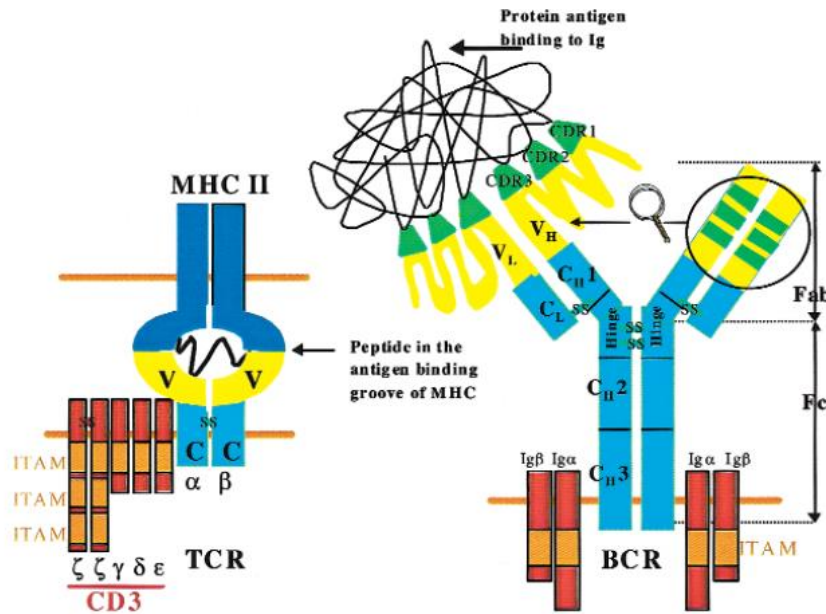
Produksi mediator proinflamasi. Selain memiliki fungsi khusus sebagai sel fagositik, fungsi utama lain dari neutrofil adalah untuk melepaskan senyawa proinflamasi yang berada di dalam kompartemen intraseluler dan melepaskan melalui proses eksositosis.¹⁸ Kemampuan neutrofil terstimulasi untuk membebaskan asam arakidonat memiliki dampak terhadap inflamasi akut. Meskipun asam arakidonat memiliki efek kemoatraktan intrinsik dan kemampuan stimulatori neutrofil, metabolik dari asam arakidonat sebenarnya lebih memiliki dampak terhadap inflamasi. Salah satu metabolit yang paling dikenal adalah leukotrin (LT). Neutrofil dapat memproduksi LTB₄, mediator yang sangat poten terhadap terjadinya kemoatraksi neutrofil. Jalur siklo-oksigenase (COX) merupakan jalur utama lain metabolisme asam arakidonat. Asam arakidonat yang dimetabolisme oleh COX dikonversi menjadi prostaglandin H, yang menjalani sejumlah konversi menjadi bentuk prostaglandin spesifik lain. Prostaglandin yang paling sering ditemui pada inflamasi adalah prostaglandin (PG)E₂, yang memiliki sejumlah efek proinflamasi diantaranya meningkatkan vasodilatasi, permeabilitas vaskular, dan nyeri. Meskipun neutrofil normal menunjukkan sedikit aktivitas COX, aktivasi yang persisten akan meningkatkan COX-2, yang memberikan kesan bahwa neutrofil berperan terhadap PGE₂ dalam kondisi inflamasi ataupun dalam menurunkan aktivitasnya. Selain asam arakidonat, neutrofil juga mampu menghasilkan sitokin yang memainkan peran dalam kemotaktik neutrofil pada area target. Sitokin yang diproduksi oleh neutrofil diantaranya interleukin (IL)-8, IL-12, MIP-1 α dan β (CCL3 dan CCL4), *growth-related oncogene- α* (GRO- α), onkstatin M, *monocyte chemotactic protein* (MCP)-1, dan TGF- β . Sejumlah penelitian juga telah memberikan kesan bahwa neutrofil juga sebagai

sumber IL-17, sitokin poten yang dapat meningkatkan migrasi dan rekrutmen neutrofil. Molekul lain yang berasal dari neutrofil diketahui menjadi jembatan antara imunitas bawaan dan imunitas bawaan. Neutrofil yang teraktivasi melepaskan *B-lymphocyte stimulator* (BlyS) dan *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL). Meskipun BlyS menstimulasi proliferasi sel B (melalui famili receptor TNF), TRAIL mampu menginduksi efek anti-tumor sel T dan apoptosis.¹²

2.3. Limfosit

Sel-sel sistem imun berasal dari sel punca hematopoietik di dalam sumsum tulang. Turunan mieloid dan limfoid dipisahkan selama proses diferensiasi.¹⁹ Limfosit merupakan sel utama pada sistem imun yang merupakan salah satu mekanisme pertahanan yang paling canggih dan komprehensif dalam sistem biologi.²⁰

Terdapat tiga kelas besar limfosit – sel B, sel T dan sel *natural killer* (NK) – dan ketiganya memiliki jalur perkembangan yang berbeda.¹⁹ Pertumbuhan sel B dan terutama sel T dari sel punca pluripoten memerlukan diferensiasi yang berkelanjutan pada setiap tahapan perkembangan yang dimulai dari sumsum tulang dan berakhir pada timus (sel T) atau jaringan limfoid perifer (sel B). Selama diferensiasi, limfosit diajarkan untuk mengenali antigen ‘milik sendiri’ dan ‘asing’ melalui ekspresi *antigen-specific antigens* yang dikenal sebagai reseptor sel T (*T-cell receptors/TCR*) dan reseptor sel B (*B-cell receptors/BCR*) (**Gambar 4**). TCR tersusun dari subunit $\alpha\beta$ atau $\gamma\delta$, sementara BCR terdiri dari immunoglobulin yang melekat pada membran.²¹



Gambar 4. Komposisi *T-cell receptors* (TCR) dan *B-cell receptors* (BCR). TCR tersusun dari kompleks CD3 dan subunit $\alpha\beta$ (atau $\gamma\beta$). $\alpha\beta$ (atau $\gamma\beta$) berikatan dengan epitop *MHC-bound antigenic*, kompleks CD3 mentransduksikan sinyal intraseluler. BCR terdiri dari imunoglobulin permukaan dan molekul asesorius $Ig\alpha$ dan $Ig\beta$. V, regio varabel reseptor; C, regio konstan reseptor; $\zeta\zeta\gamma\delta\epsilon$, subunit-subunit pada kompleks CD3; α dan β , subunit-subunit TCR; *Ig*, imunoglobulin yang melekat pada membran; $Ig\alpha$ dan $Ig\beta$, molekul asesoris BCR; C_H dan C_L , regio konstan pada imunoglobulin rantai berat (*heavy/H*) atau ringan (*light/L*); V_H dan V_L , regio variabel dari imunoglobulin rantai H dan L; *CDR*, *complementarity determining region*., *ITAM*, *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*; F_c , fragmen konstan; F_{ab} , fragmen yang pengikat antigen.
(Alam R, and Gorska M. *Lymphocyte. J Allergy Clin Immunol.*2003)

- Sel T

Sel T dihasilkan di dalam timus setelah proses migrasi protimosit dari sumsum tulang ke timus yang diikuti oleh sejumlah prekursor timosit. Lebih dari 95% timosit mati di dalam timus, tetapi sebagian kecil populasi yang berasal dari dalam timus adalah sel T $CD4^+$ atau $CD8^+$ dan memasuki sistem limfoid sebagai prekursor mentah (*naive*) yang dapat bertahan hidup selama beberapa tahun. Sel T memiliki fungsi yang sangatlah berbeda-beda diantaranya : (i) menyediakan sinyal yang membantu menginduksi sel T dan sel B untuk berproliferasi dan berdiferensiasi, (ii) secara spesifik menghancurkan sel-sel yang terinfeksi atau sel-sel asing, (iii) mengaktivasi makrofag untuk meningkatkan sitotoksitas seluler dan (iv) mengatur respon imun.¹⁹

- Sel B

Sebagian besar sel B dihasilkan dari dalam sumsum tulang belakang. Sel B matur yang baru memasuki sirkulasi limfoid, tetapi, jika dipicu oleh antigen di dalam aliran perifer, sejumlah sel akan kembali ke sumsum tulang sebagai sel plasma yang berumur panjang yang akan mensekresikan imunoglobulin. Limfosit B merupakan prekursor sel-sel yang memproduksi antibodi. Setiap sel B memproduksi, dan mengekspresikan pada permukaannya, imunoglobulin yang spesifik terhadap masing-masing antigen. Spesifitas imunoglobulin ditentukan oleh gen domain imunoglobulin yang disusun selama limfopoiesis B. Sel B yang mengikat antigen melalui permukaan imunoglobulin harus memperoleh sinyal tambahan jika sel B akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel yang mampu mensekresikan antibodi. Proses tersebut dapat dibantu oleh sel T *helper*, yang mengenali antigen yang dibawa dan dipresentasikan oleh sel B.¹⁹

- Sel NK

Sel NK nampaknya berkembang di dalam lingkungan sumsum tulang belakang. Sel ini mampu membunuh sel yang gagal mengekspresikan molekul *major histocompatibility complex (MHC) class I* pada permukaannya atau yang mengekspresikan molekul yang terkait stres seluler.¹⁹

Limfosit bersirkulasi disekitar jaringan tubuh melalui vaskular darah dan limfatik. Pembuluh limfatik mengalir pada ruang ekstrasvaskular dan nodus limfatik merupakan kumpulan jaringan limfoid pada pembuluh limfatik, yang mengatur optimalisasi pertemuan antara limfosit dan antigen. Limfoid aferen mengalir menuju nodus limfatik, membawa limfosit sirkuler dan sejumlah sel dendritik yang mengandung antigen dari jaringan sekitar. Limfoid eferen mengembalikan limfosit ke aliran darah, yang merupakan lokasi sel-sel baru

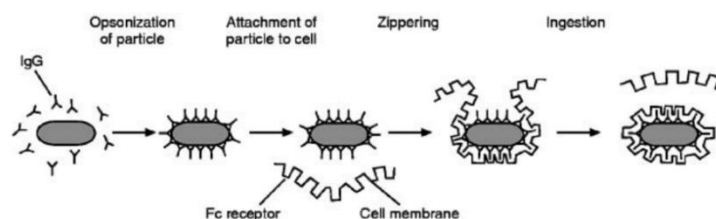
melanjutkan pola sirkulasi untuk mencari antigen. Limfosit yang telah mengenali antigen bermigrasi ke sejumlah jaringan untuk memediasi fungsi efekturnya. Proses tersebut sangat ditentukan oleh profil reseptor kemokin pada limfosit.¹⁹

2.4. Monosit

Monosit merupakan jenis leukosit yang sangat penting terhadap sistem imunitas bawaan yang memainkan peranan utama dalam mempertahankan pejamu dari patogen yang menginvasi.²²

Diantara leukosit darah, sel fagositik mononuklear atau monosit merupakan suatu jenis sel dengan plastisitas untuk berkembang menjadi makrofag atau sel-sel dendritik.²² Monosit berasal dari sumsum tulang dari sel punca pluripoten; sel prekursor langsung monosit adalah promonosit yang diturunkan dari monoblas. Setelah monosit dibentuk melalui pembelahan promonosit, monosit akan bertahan hanya dalam waktu yang singkat (kurang dari satu hari) pada kompartemen sumsum tulang. Ketika monosit memasuki sirkulasi, monosit akan terbagi ke *circulating pool* dan *marginating pool*. Monosit bertahan lebih lama pada sirkulasi, waktu paruh sekitar 71 hari. Kemudian, monosit akan meninggalkan kompartemen ini secara acak melalui proses yang disebut dengan diapedesis dan bermigrasi ke jaringan dan kavitas-kavitas tubuh yang kemudian akan berdiferensiasi menjadi makrofag. Produksi monosit di dalam sumsum tulang diatur oleh sitokin-sitokin penstimulasi pertumbuhan seperti interleukin 3 (IL-3), *stem cell factor* (SCF), *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), dan *macrophage colony-stimulating factor* (M-CSF), dan selama inflamasi juga oleh *factor increasing monocytopoiesis* (FIM). Sebagai akibatnya, jumlah monosit pada darah perifer akan meningkat 1,5 – 2 kali lipat, waktu paruh akan berkurang sebanyak kira-kira 12 jam, dan sebagian besar jumlah monosit yang meningkat ini akan bermigrasi menuju lokasi inflamasi.²³

Monosit akan ditransportasikan dari lokasi asal menuju ke lokasi fungsional, yakni, jaringan dan kavitas tubuh. Di dalam jaringan, monosit akan berdiferensiasi pertama kali menjadi makrofag eksudat, dan kemudian menjadi makrofag residen. Monosit memiliki peralatan untuk mencerna mikroorganisme yang telah teropsonisasi, sel darah merah dan material lainnya. Proses fagositosis dapat dibagi menjadi dua tahap. Pertama, (opsonisasi) partikel dilekatkan pada permukaan fagosit. Opsonin berperan sebagai ligan untuk mengikat partikel ke reseptor spesifik pada permukaan monosit; mikroorganisme dan sel-sel lain yang tidak teropsonisasi akan mengalami ikatan antara struktur gula pada permukaan sel organisme dengan *lectin-like receptors* pada monosit. Setelah ligasi partikel tersebut terhadap permukaan sel monosit, suatu sinyal akan tercipta yang akan mendukung suatu internalisasi. Psudopoda monosit kemudian akan terbentuk dari susunan filamen aktin. Psudopoda akan menempel dengan sat erat pada partikel asing melalui interaksi ligan dengan reseptor pada permukaan sel monosit. Proses ini disebut dengan mekanisme *zipper* (**Gambar 5**). Ketika proses pencernaan selesai partikel tersebut akan berada di sitoplasma dalam suatu vakuola, yang dibentuk oleh sel membran yang terinversi, dan disebut dengan fagosom. Kemudian lisosom akan melakukan fusi dengan fagosom dan enzim lisosomal akan dilepaskan ke dalam fagosom tersebut dan saling berhubungan dengan partikel yang telah difagositkan tersebut. Tahapan selanjutnya dari proses ini adalah mekanisme mikrobisidal dan proses pencernaan akan berlangsung.²³

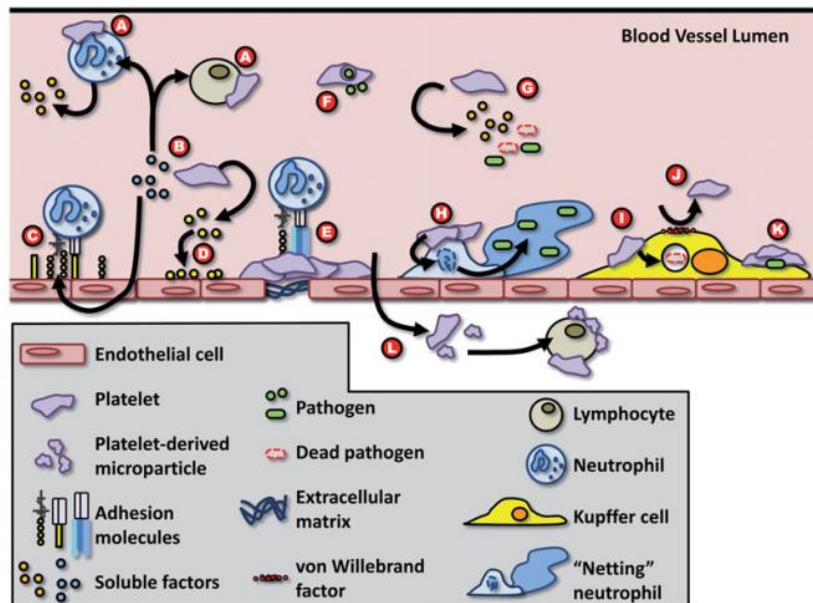


Gambar 5. Tahapan proses fagositosis (van Furth R, dan Beekhuizen H. Monocytes in Encyclopedia Immunology. Elsevier. 1998)

2.5. Trombosit

Trombosit merupakan sel darah yang tidak bernukleus (diameter 2 – 4 μm) dengan fungsi yang beragam dan masa hidup yang singkat, bersirkulasi di dalam darah selama 7 – 10 hari pada manusia dan setelah itu akan dieliminasi di dalam lien dan hepar. Trombopoiesis (produksi trombosit) terjadi secara umum di sumsum tulang, dan didahului oleh diferensiasi sel punca hematopoietik menjadi megakariosit poliploid (diameter 50 – 100 μm), Trombopoiesis dijalankan oleh sejumlah faktor-faktor transkripsi, dengan sinyal balik negatif dari trombopoetin pada tahap akhir produksi platelet. Trombopoietin, yang diproduksi di dalam hepar, menstimulasi reseptor trombopoietin pada megakariosit untuk menginduksi pembentukan proplatelet melalui mekanisme yang diaktifkan ketika jumlah trombosit berkurang di dalam darah. Pada kondisi trombopoiesis reaktif, seperti saat inflamasi, IL-6 meningkatkan proses pembentukan proplatelet dengan meningkatkan kadar trombopoietin. Endotel vaskular secara terus menerus mencegah aktivasi platelet melalui sejumlah mekanisme, yang paling terkenal yakni melalui ektonukleotidase (yang mendegradasi ATP dan ADP), trombomodulin (yang menginaktivasi trombin), dan pelepasan prostaglandin I₂ (PGI₂ dikenal juga dengan prostasiklin) dan nitrik oksida.²⁴

Saat ini telah diketahui bahwa platelet dapat ditemukan dalam sejumlah kondisi inflamasi termasuk infeksi bakteri dan sepsis, *inflammatory bowel disease*, aterosklerosis dan sindrom koroner, dan sindrom inflamasi pulmoner (**Gambar 6**).^{25,26} Namun stroke merupakan suatu kondisi yang sangat menunjukkan platelet memainkan peran pada kondisi inflamasi, melalui proses agregasi platelet yang menyebabkan perburukan perfusi dan potensi kerusakan jaringan. Platelet juga telah lama dihubungkan dengan terjadinya artritis reumatoid (AR), meskipun masih belum jelas bagaimana plasmosit non-motil ini mampu melakukan transmigrasi menuju ke persendian.²⁶



Gambar 6. Platelet memainkan sejumlah peran dalam inflamasi dan respon imun. (A) platelet mengikat dan mengaktivasi leukosit didalam sirkulasi, yang akan memicu fungsi efektor, seperti degranulasi; (B) platelet melepaskan mediator-mediator yang terlarus, seperti CD40L yang mengaktivasi leukosit; (C) mediator-mediator tersebut juga mengaktivasi endotel, menginduksi ekspresi molekul adesi, yang memungkinkan endotel untuk mendukung suatu proses adesi leukosit; (D) platelet melepaskan kemoatraktan yang dapat berdeposit pada endotel, kemudian mendukung rekrutmen dan adesi leukosit; (E) platelet melekat pada endotel, atau matriks subendotel, mendukung terjadinya adesi leukosit pada vaskular meskipun dalam kondisi ketiadaan ekspresi molekul adesi oleh endotel; (F) platelet secara langsung mengenali, mengikat dan melakukan internalisasi patogen, *sequestering* dan *neutralizing* penginvasi asing; (G) pada proses pengenalan patogen, platelet akan aktif dan berdegranulasi, melepaskan mediator antimikroba untuk membunuh patogen secara langsung; (H) platelet berikatan dengan neutrofil yang akan menginduksi pelepasan dari NET untuk memastikan dan membunuh patogen sirkuler; (I) platelet berikatan dengan fagosit yang akan menghantarkan sinyal untuk meningkatkan penghancuran patogen yang telah melalui internalisasi; (J) platelet secara aktif mengawasi vaskular untuk mendeteksi adanya patogen spesifik; (K) pada saat patogen terdeteksi, platelet dengan cepat membungkus patogen; (L) platelet tidak terbatas pada vaskular, platelet dan *platelet-derived microparticles* keluar dari vaskular dan masuk ke jaringan yang akan berikatan dan mengaktivasi leukosit, kemudian akan menjalankan respon imun inflamatorik

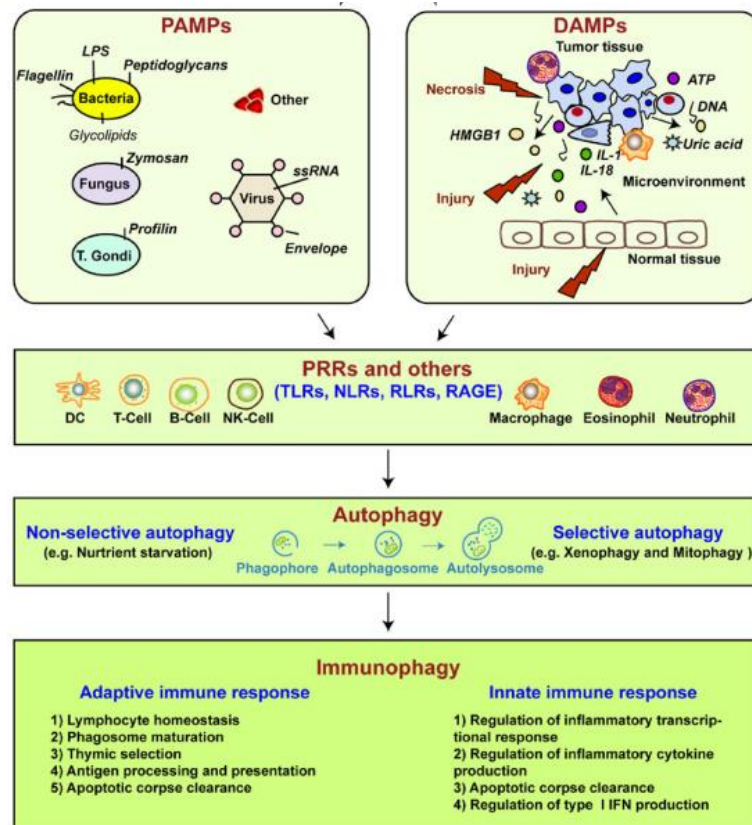
(Lisman T. Platelet-neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. *Cell Tissue Res.* 2018)

Sejumlah penelitian memberikan kesan bahwa platelet menginfiltrasi jaringan bersamaan dengan terjadinya autoimunitas. CD40L, suatu penanda inflamasi vaskuler, telah diketahui terlibat dalam timbulnya lupus dan platelet diketahui sebagai sumber utama dari sCD40L. Penghmbatan pada CD40 atau CD40L menghasilkan inflamasi yang

lebih ringan pada sejumlah model inflamasi. Selain itu, deplesi platelet juga ditemukan akan memperbaiki harapan hidup model tikus dengan lupus.^{25,26}

2.6. Mekanisme Pengenalan Bahaya

Bahaya terdapat dimana-mana. Pejamu mengenali sinyal bahaya dengan melakukan induksi respon imun bawaan dan kemudian adaptif (**Gambar 7**). Dalam kondisi terjadi infeksi mikroba, *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs), akan ditemukan pada organisme-organisme asing tetapi tidak ditemukan pada pejamu, memberikan sinyal eksogen yang mengabarkan bahaya kepada sistem imun terhadap adanya patogen, sehingga terjadi sejumlah proses imunitas. Diduga hal tersebut merupakan ‘sinyal 0’ bagi imunitas bawaan, seperti yang dipostulatkan oleh Janeway, yang membedakannya dengan sinyal-sinyal lain yang timbul diwaktu yang akan datang untuk menjalankan imunitas adaptif. Pola molekul tersebut akan menimbulkan pengenalan pertama oleh reseptor yang disebut *pattern recognition receptors* (PRR). Sebaliknya, sel-sel melepaskan *damage-associated molecular pattern molecules* (DAMPs) sebagai sinyal bahaya endogen yang akan mengabarkan sistem imun bawaan bahwa terjadi kematian sel yang tidak terencana, invasi mikroba, dan adanya stres sel.⁸



Gambar 7. Sinyal 0 memainkan peranan yang penting pada autofagi dan imunitas. *Pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) dan *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) berperan sebagai sinyal 0, menginduksi autofagi dan imunofagi pada respon imun segera sebelum terjadi sejumlah sinyal lainnya (Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, and Lotze MT. PAMPs and DAMPs: Signal0s that Spur Autophagy and Immunity. *Immunol Rev.* 2012)

2.7. Neutrophil-Lymphocyte Ratio (NLR), Monocyte-Lymphocyte Ratio (MLR), Platelet-Lymphocyte Ratio (PLR) sebagai parameter infeksi dan diagnosis lainnya.

Populasi sel darah putih memainkan peranan penting dalam respon inflamasi sistemik terhadap adanya infeksi.²⁷ Pasien yang dirawat dengan demam umumnya menunjukkan suatu permasalahan diagnosis, dan diagnosis yang tepat, tentu saja, mendapatkan terapi yang tepat yang pada akhirnya akan memperbaiki luaran yang diperoleh pasien.²

Belakangan ini, sejumlah parameter sederhana, yang berasal dari pemeriksaan darah lengkap, telah diteliti kegunaannya sebagai penanda biologis, termasuk *neutrophil-lymphocyte ratio* (NLR), *monocyte-lymphocyte ratio* (MLR), *platelet-lymphocyte ratio*

(PLR). Namun, hasil yang diperoleh cukup bervariasi dan belum ada konsensus sejauh ini terkait akurasi dan kegunaan klinis dari parameter-parameter tersebut.¹

Suatu penelitian prospektif observasional yang menilai nilai prognostik dari NLR, MLR, PLR, dan sejumlah parameter sederhana lainnya terhadap luaran pasien dengan sepsis dan/atau trauma menemukan bahwa NLR memiliki nilai yang lebih tinggi secara signifikan pada pasien yang tidak bertahan hidup (AUC/ROC 0,681-0,717), sementara MLR dan PLR tidak ditemukan perbedaan yang signifikan.¹ NLR dan MLR mampu membedakan antara kelompok pasien dengan gejala demam yang dirawat di rumah sakit akibat infeksi ataupun tanpa infeksi. Naess *et al* menyimpulkan bahwa NLR dan NLR sangat bermanfaat dalam menegakkan diagnosis infeksi bakteri, *area under curve* (AUC) 0,708 dan 0,688, masing-masing. Peneliti tersebut juga melaporkan bahwa pada pasien dengan infeksi bakteri memiliki nilai MLR yang lebih tinggi dibandingkan akibat infeksi virus ataupun diagnosis klinis lainnya.² Penelitian analisa retrospektif pada 2066 pasien dengan sirosis dekompesata juga menemukan bahwa pasien dengan NLR > 4,33 menunjukkan adanya suatu infeksi bakteri dan prognosis yang lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya.¹⁹ Infeksi bakteri sebagai ko-infeksi pada beberapa penyakit dasar terbukti mampu meningkatkan kadar NLR.^{29,30} Sementara itu, infeksi virus telah dikenal berkaitan dengan limfositosis, yang akan menurunkan nilai NLR, MLR, dan PLR.² Hipotesa tersebut berhasil dibuktikan pada suatu penelitian terhadap 266 pasien yang masuk ke rumah sakit dengan gejala umum demam. Penelitian tersebut menemukan hasil bahwa secara umum NLR dan MLR yang tinggi mengindikasikan kemungkinan yang lebih mengarah ke infeksi bakteri dibandingkan infeksi bakteri.² Russel CD *et al* yang melakukan suatu penelitian dengan metode metaanalitik memberikan kesan bahwa NLR yang tinggi berkaitan dengan bakteremia, sementara beberapa penelitian masih menunjukkan hasil yang kontradiksi terhadap peranan nilai NLR terhadap infeksi virus.³¹

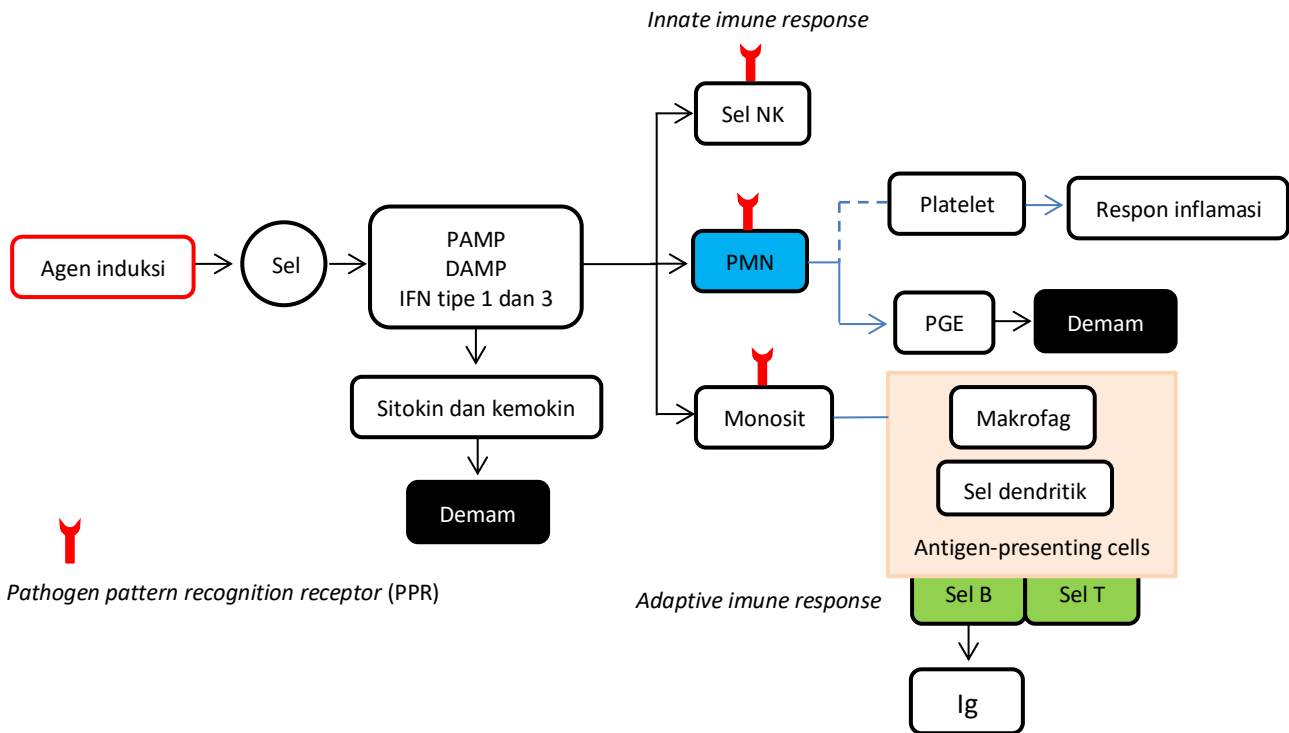
Suatu tinjauan mengenai peranan PLR dan NLR terhadap diagnosis dan beratnya penyakit reumatik telah dilaksanakan. Hasilnya, sejumlah parameter hematologi sederhana, terutama PLR dan NLR, dapat membantu untuk penegakan diagnosis dan menilai aktivitas dan beratnya sejumlah penyakit reumatik, dalam rangka deteksi dini, dan dalam observasi respon terapi anti-inflamasi.³² Zeren S *et al* dalam suatu penelitian analitik retrospektif mempostulatkan bahwa PLR merupakan suatu penanda biologis gastritis dengan infeksi *H. pylori*, sementara nilai diagnostik NLR tidak lebih superior dibandingkan PLR.³³ Pada gangguan imunitas, beberapa parameter hematologi sederhana juga mampu berperan sebagai penanda biologis, terutama terhadap aktivitas penyakit. Qin B *et al* menemukan nilai NLR dan PLR berhubungan secara positif terhadap kadar *C-reactive protein* (CRP), *erythrocyte sedimentation rate* (ESR), dan skor SLEDAI.³⁴

Berdasarkan hasil-hasil tersebut, sejumlah gangguan berhubungan dengan peningkatan rasio-rasio ini, yang bukan hanya akibat gangguan infeksi, tetapi juga terhadap penyakit-penyakit maligna dan penyakit imunologis, yang merupakan kondisi-kondisi yang tidak jarang masuk ke rumah sakit dengan keluhan demam.² Sementara itu, selain dalam diagnostik, NLR, MLR, dan PLR juga menunjukkan kapasitas prognostik dalam memprediksi tingkat harapan hidup pasien dengan sejumlah penyakit. Sehingga penggunaan sejumlah rasio tersebut memungkinkan klinisi untuk melakukan stratifikasi pasien dengan sejumlah penyakit, terutama yang berhubungan dengan inflamasi, ke dalam kategori prognostik.²⁰

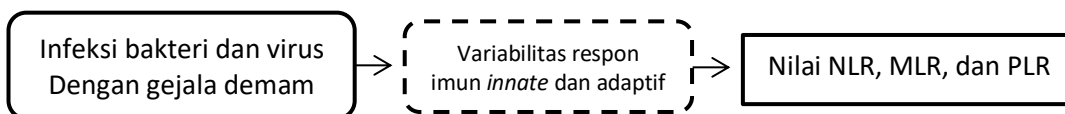
BAB III


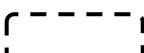
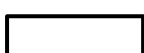
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN VARIABEL PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori



3.2. Kerangka Konsep



-  Variabel bebas
-  Variabel antara
-  Variabel terikat

3.3. Hipotesis Penelitian

- Nilai NLR lebih tinggi pada pasien dengan infeksi bakteri yang datang dengan keluhan demam dibandingkan pasien dengan infeksi virus.

- Nilai MLR lebih tinggi pada pasien dengan infeksi bakteri yang datang dengan keluhan demam dibandingkan pasien dengan infeksi virus.
- Nilai PLR lebih tinggi pada pasien dengan infeksi bakteri yang datang dengan keluhan demam dibandingkan pasien dengan infeksi virus.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan/Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat analisis observational menggunakan pendekatan kohort prospektif.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1. Tempat penelitian

Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP). Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar untuk melakukan pengambilan sampel.

4.2.2. Waktu penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Juli 2019 hingga jumlah sampel terpenuhi.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah semua pasien dengan demam yang dirawat di Instalasi Gawat Darurat (IGD) RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo pada periode Juni – Juli 2019.

Sampel penelitian adalah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria penelitian.

4.4. Ukuran Sampel

Penentuan jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan teknik *consecutive sampling* dengan menggunakan rumus :

$$n = \frac{NZ^2P(1 - P)}{d^2(N - 1)Z^2P(1 - p)}$$

Keterangan :

N = perkiraan populasi penelitian

Z = nilai standar deviasi normal

P = perkiraan proporsi atribut yang diteliti

d = tingkat ketelitian yang dipilih

Sehingga berdasarkan rumus tersebut, dengan memasukkan nilai perkiraan populasi penelitian sebesar 300 pasien, nilai standar deviasi 1,96, perkiraan proporsi atribut yang diteliti sebesar 0,5, dan tingkat ketelitian yang dipilih sebesar 0,1 maka jumlah sampel yang diakan dilibatkan dalam penelitian ini adalah 73 pasien.

4.5. Metode Pengumpulan Sampel

4.5.1. Kriteria inklusi

- Pasien dewasa yang berusia > 18 tahun.
- Pasien dengan keluhan demam yang masuk di Instalasi Gawat Darurat dan Rawat Inap

4.5.2. Kriteria eksklusi

- Pasien meninggal sebelum pengambilan sampel darah.

4.6. Bahan Penelitian dan Alat Penelitian

Bahan penelitian adalah hasil pemeriksaan darah lengkap yang tertera dalam laporan rekam medik pasien. Pemeriksaan darah lengkap dilakukan dengan menggunakan alat Sysmex XP-300TM *Automated Hematology Analyzer* (Symex Corporation, Kobe, Jepang) yang menggunakan metode *flowcytometry*.

4.7. Teknik dan Analisis Data

4.7.1. Kriteria objektif

- Demam : suhu tubuh $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ($99,5^{\circ}\text{F}$)
- Nilai normal masing-masing hitung sel, yakni : (a) neutrofil : 52,0 – 75,0% ($10^3/\mu\text{L}$); (b) monosit 2,00 – 8,00% ($10^3/\mu\text{L}$); (c) limfosit : 20,0 – 40,0% ($10^3/\mu\text{L}$); platelet 150 – 400 x $10^3/\mu\text{L}$.
- Diagnosis akhir : diagnosis definitif yang ditetapkan oleh klinisi ahli yang tertera pada rekam medis.

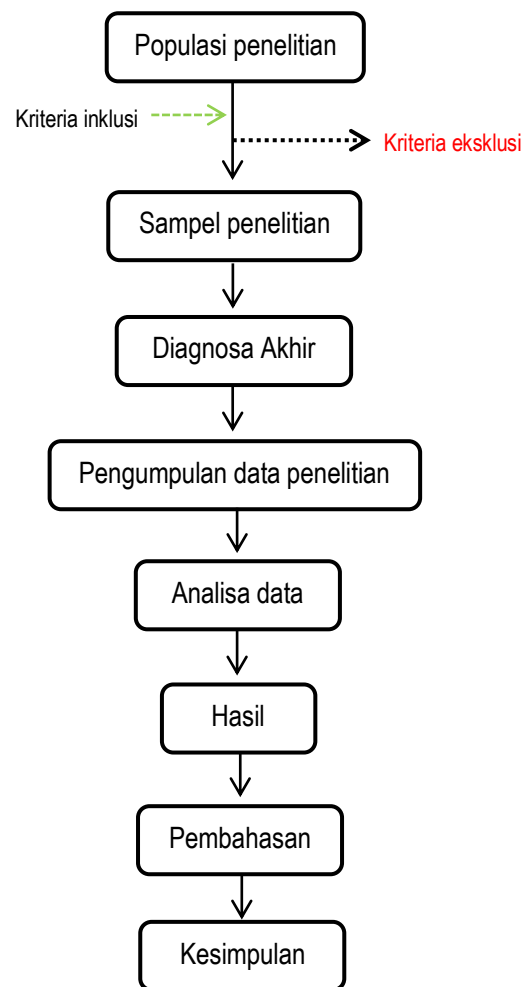
4.7.2. Definisi operasional

- Kelompok curiga/terkonfirmasi infeksi bakteri merupakan suatu kelompok diagnosis yang telah melalui pemeriksaan kultur spesimen dan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri ataupun berdasarkan literatur diagnosis tersebut sebagian besar disebabkan oleh infeksi bakteri.
- Kelompok curiga/terkonfirmasi infeksi virus merupakan suatu kelompok diagnosis yang telah melalui pemeriksaan kultur spesimen dan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri ataupun berdasarkan literatur diagnosis tersebut sebagian besar disebabkan oleh infeksi virus.

4.7.3. Analisa data

Uji statistik yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah uji ANOVA dan *t-test*. Perbedaan antar kelompok akan dikatakan signifikan jika $p < 0,05$. Analisa statistik akan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak statistik SPSS 25 (Chicago, Illinois, USA).

4.8. Alur Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Karakteristik pasien

Penelitian ini melibatkan 207 pasien yang masuk di unit gawat darurat dengan gejala utama demam, laki-laki 92 (44%) pasien. Usia rata-rata pasien adalah $45,6 \pm 14,6$ tahun. Secara umum, leukosit pada seluruh pasien masih berada pada rentang yang normal (**Tabel 1**).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

VARIABEL	HASIL
Usia (rata-rata \pm SD)	$45,7 \pm 14,7$
Jenis kelamin n(%)	
Laki-laki	92 (44)
Leukosit (rata-rata \pm SD)	$9,2 \pm 5,1$
Neutrofil (rata-rata \pm SD)	$6,8 \pm 4,7$
Limfosit (rata-rata \pm SD)	$2,0 \pm 1,1$
Monosit (rata-rata \pm SD)	$0,2 \pm 0,2$
Trombosit (rata-rata \pm SD)	$235,7 \pm 103,2$

SD, standar deviasi

Sebagian besar (135/207 [65,2%]) diagnosis pasien yang masuk dengan gejala demam di unit gawat darurat merupakan kecurigaan terhadap infeksi bakteri ataupun terkonfirmasi (**Tabel 2**).

Tabel 2. Frekuensi diagnosis akhir pasien dengan gejala utama demam

DIAGNOSIS AKHIR	n(%)
<i>Curiga/terkonfirmasi infeksi bakteri</i>	135 (66,5)
Demam tifoid	47 (34,8)
Tuberkulosis paru	30 (22,2)
Infeksi saluran kemih	5 (3,7)
Kolesistitis akut	7 (5,1)
Ulkus diabetik terinfeksi	6 (4,4)
Pneumonia	40 (29,6)
<i>Curiga/terkonfirmasi infeksi virus</i>	68 (33,5)
Hepatitis B	5 (7,3)
Infeksi HIV	11 (16,1)
DHF	52 (76,4)

5.1.2. Hubungan NLR terhadap diagnosa akhir

Infeksi saluran kemih menunjukkan rata-rata NLR yang paling tinggi ($9,4 \pm 3,6$), diikuti dengan kolesistitis akut ($8,5 \pm 5,0$), dan pneumonia ($7,9 \pm 5,0$). Rata-rata NLR paling rendah ditunjukkan pada penyakit *dengue hemorrhagic fever* (DHF), yakni sebesar $1,7 \pm 0,5$. Terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata NLR terhadap diagnosis akhir ($P < 0,001$; **Tabel 3**).

Tabel 3. Rata-rata NLR berdasarkan diagnosa akhir

DIAGNOSIS AKHIR	NLR (rata-rata \pm SD)	P
------------------------	--	----------

Hepatitis B	1,6 ± 0,5	
DHF	1,7 ± 0,5	
Demam tifoid	2,3 ± 1,5	
Infeksi HIV	2,6 ± 1,0	
Tuberkulosis paru	5,5 ± 3,9	< 0,001
Ulkus diabetik terinfeksi	5,7 ± 3,7	
Pneumonia	7,9 ± 5,0	
Kolesistitis akut	8,5 ± 5,0	
Infeksi saluran kemih	9,4 ± 3,6	

SD, standar deviasi

5.1.3. Hubungan MLR terhadap diagnosa akhir

Infeksi saluran kemih menunjukkan rata-rata MLR yang paling tinggi ($0,23 \pm 0,20$), diikuti dengan kolesistitis akut ($0,22 \pm 0,20$), dan pneumonia ($0,21 \pm 0,16$). Rata-rata MLR paling rendah ditunjukkan pada penyakit tuberkulosis paru dan DHF, yakni sebesar $0,06 \pm 0,03$. Terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata MLR terhadap diagnosis akhir ($P < 0,001$; **Tabel 4**).

Tabel 4. Rata-rata MLR berdasarkan diagnosa akhir

DIAGNOSIS AKHIR	MLR (rata-rata ± SD)	P
DHF	0,06 ± 0,03	
Tuberkulosis paru	0,06 ± 0,03	< 0,001
Hepatitis B	0,06 ± 0,05	
Infeksi HIV	0,09 ± 0,04	

Demam tifoid	0,09 ± 0,06
Ulkus diabetik terinfeksi	0,16 ± 0,11
Pneumonia	0,21 ± 0,16
Kolesistitis akut	0,22 ± 0,20
Infeksi saluran kemih	0,23 ± 0,20

SD, standar deviasi

5.1.4. Hubungan PLR terhadap diagnosa akhir

DHF dan hepatitis B menunjukkan nilai PLR yang paling rendah, yakni sebesar $78,1 \pm 44,2$ dan $72,3 \pm 40,4$, masing-masing. Meskipun demikian, perlu dipertimbangkan bahwa ukuran sampel pasien dengan hepatitis B sangat sedikit (2,4%). Terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata PLR terhadap diagnosis akhir ($P < 0,001$; **Tabel 5**).

Tabel 5. Rata-rata nilai PLR berdasarkan diagnosa akhir

DIAGNOSIS AWAL	PLR (rata-rata ± SD)	<i>P</i>
Hepatitis B	72,3 ± 40,4	< 0,001
DHF	78,1 ± 44,2	
Ulkus diabetik terinfeksi	108,7 ± 26,4	
Demam tifoid	148,4 ± 73,1	
Infeksi saluran kemih	173,2 ± 91,5	
Pneumonia	175,5 ± 110,5	
Tuberkulosis paru	183,2 ± 116,1	
Infeksi HIV	225,0 ± 92,6	

Kolesistitis akut	229,1 ± 103,8
SD, standar deviasi	

5.2. Pembahasan

5.2.1. Hubungan NLR terhadap diagnosa akhir

Pasien yang masuk ke rumah sakit dengan demam seringkali menunjukkan adanya kendala diagnostik, dan diagnosis yang tepat untuk memberikan penanganan secara adekuat. Meskipun Forget *et al* melaporkan bahwa kadar normal NLR berkisar 0,78 hingga 3,53 pada populasi yang sehat, rentang nilai normal NLR masih kontroversi akibat keterbatasan bukti terhadap subjek yang memiliki kesamaan imunitas dan status inflamasi.³⁵ Pada laboratorium yang kami gunakan nilai normal NLR berkisar 1,3 – 3,8. Pada beberapa penelitian sebelumnya, NLR ditemukan lebih tinggi pada pasien demam akibat infeksi bakteri dibandingkan infeksi virus.^{2,35} Pada penelitian ini, kami menemukan bahwa kadar NLR meningkat pada sejumlah penyakit yang secara umum disebabkan oleh infeksi bakteri, diantaranya infeksi saluran kemih, kolesistitis akut, pneumonia, ulkus diabetik, dan tuberkulosis paru (**Tabel 2**; $P < 0,001$). Hasil tersebut sama dengan suatu penelitian dengan metode tinjauan sistematik dan metaanalitik yang dilakukan oleh Russell CD, *et al*. Pada penelitian tersebut, NLR dapat dianggap sebagai suatu penanda biologis pada beberapa infeksi bakteri, seperti infeksi saluran pernapasan, pneumonia komunitas, infeksi saluran kemih, ulkus diabetik, tuberkulosis pulmonal, dan tonsilitis bakterial.³¹

Pasien dengan peningkatan NLR menunjukkan biasanya menunjukkan jumlah limfosit yang menurun/normal dan peningkatan pada neutrofil, memberikan kesan bahwa imunitas seluler mengalami gangguan dan inflamasi sistemik semakin meluas. NLR dianggap memiliki tingkat diskriminatif dalam

memprediksi bakteremia dibandingkan melakukan prediksi dengan menggunakan neutrofilia atau limfositopenia tersendiri.^{35,36,37} Yang terbaru de Jager *et al* menunjukkan bahwa limfositopenia dan NLR merupakan prediktor bakteremia yang lebih baik dibandingkan parameter rutin seperti CRP, hitung leukosit, dan hitung neutrofil pada unit gawat darurat.³⁷ Respon imun fisiologis terhadap adanya infeksi dan kondisi stres dikarakteristikan dengan peningkatan pada hitung neutrofil dan penurunan pada hitung limfosit. Peningkatan hitung neutrofil disebabkan oleh berkurangnya apoptosis neutrofil dan mobilisasi neutrofil yang semakin sepat dari sumsum tulang. Hitung limfosit berkurang akibat migrasi limfosit teraktivasi menuju ke jaringan inflamasi dan peningkatan apoptosis limfosit.³⁸ Akibat penurunan jumlah limfosit yang kadang ditemukan pada pasien dengan peningkatan NLR, sejumlah penelitian menemukan bahwa NLR yang meningkat berkaitan dengan mortalitas yang tinggi.³¹

Lee WJ *et al* yang melakukan penelitian pada 479 orang tua yang masuk dengan infeksi saluran kemih di unit gawat darurat menemukan bahwa NLR dan kadar *c-reactive protein* (CRP), *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin secara signifikan lebih tinggi pada pasien dengan bakteremia dibandingkan pasien nonbakteremia. Pada penelitian tersebut, rata-rata NLR pada pasien dengan infeksi saluran kemih > 9.³⁹ Hasil tersebut sama dengan yang kami temukan pada penelitian ini, rata-rata NLR pada pasien dengan infeksi saluran kemih adalah 9,4 ± 3,6.

Rasio neutrofil limfosit telah digunakan untuk membantu dalam menegakkan diagnosis kolesistitis akut. Pada awalnya, CRP, laju endap darah, dan hitung leukosit yang tinggi dianggap sebagai parameter kolesistitis akut, namun beberapa parameter tersebut sangat bergantung terhadap sejumlah

kondisi, diantaranya usia, jenis kelamin, anemia, dan gagal ginjal. Karena keterbatasan-keterbatasan tersebut peneliti berusaha untuk kembali menyelidiki suatu penanda inflamasi baru, diantaranya NLR dan PLR. Temizi A *et al* telah berhasil melakukan suatu penelitian observasional retrospektif terhadap 58 pasien dengan kolesistitis akut dan 60 pasien dengan kolik bilier yang akan menjalani kolesistektomi elektif (kelompok kontrol). Penelitian tersebut menemukan bahwa NLR pada pasien dengan kolesistitis akut lebih tinggi secara signifikan terhadap kelompok kontrol. Pada penelitian tersebut nilai NLR sebesar 3,08 diajukan sebagai nilai ambang untuk membantu penegakan diagnosis kolesistitis akut dengan sensitivitas sebesar 86,7% dan spesifisitas 85,9%.⁴⁰ Patogenesis kolestasis akut dapat dipengaruhi oleh adanya peranan bakteri dalam meningkatkan beratnya kolesistitis akut. Matsuhiro T *et al* menemukan bahwa 26 pasien dari 52 pasien dengan kolesistitis akut (tipe obstruktif dan nonobstruktif) menunjukkan adanya infeksi. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa strain utama bakteri pada kolesistitis akut adalah *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella*. Mekanisme infeksi kemungkinan melalui vena porta ataupun duktus koledokus dari duodenum; namun hal ini masih menjadi kontroversi.^{41,42}

Penggunaan NLR terhadap pneumonia belakangan ini sering dihubungkan dengan prognosis penyakit ataupun terhadap beratnya penyakit. Suatu penelitian prospektif yang menilai NLR pasien yang masuk ke unit gawat darurat dengan pneumonia komunitas menemukan bahwa NLR mampu memprediksi beratnya pneumonia komunitas dengan tingkat akurasi yang lebih baik dibandingkan *Confusion, Urea, Respiratory rate, Blood pressure, aged 65 and older (CURB-65)*.^{43,44} Yang terbaru, NLR diketahui mampu berperan sebagai prediktor yang baik terhadap mortalitas hari ke-30 dan bulan ke-3 pneumonia komunitas pada

populasi orang tua. Respon inflamasi memainkan peranan yang penting dalam perkembangan dan prgresi penyakit pneumonia. Penanda biologis inflamasi, seperti CRP, interleukin (IL)-6, IL-8, dan prokalsitonin mampu meningkatkan akurasi diagnosis, tetapi penanda-penanda ini memerlukan biaya yang besar, sehingga penggunaannya tidak sering dilakukan. Suatu penelitian prospektif klinis yang dilakukan oleh Cataudella E *et al* terhadap 195 pasien orang tua dengan pneumonia komunitas berhasil menemukan bahwa rata-rata NLR pasien dengan pneumonia adalah $12,7 \pm 12,9$ dan $NLR \geq 11,12$ memiliki peningkatan risiko mortalitas dan memerlukan perawatan di rumah sakit.⁴³ Hasil tersebut sama dengan yang kami temukan pada penelitian ini, yakni terdapat peningkatan nilai NLR pada pasien dengan pneumonia (**Tabel 2**). Selain sebagai prediktor mortalitas dan beratnya CAP, suatu penelitian juga menemukan bahwa NLR mampu membedakan antara tuberkulosis pulmonal terhadap pneumonia komunitas pada tahap awal diagnosis. Gambaran klinis dan radiografi tuberkulosis yang seringkali tidak spesifik menjadi permasalahan awal dalam membedakan antara tuberkulosis pulmonal dan pneumonia, sehingga akan menimbulkan efek negatif terhadap mortalitas dan morbiditas pasien. Yoon NB *et al* dalam suatu penelitian observasional retrospektif terhadap 206 pasien yang dicurigai mengalami tuberkulosis pulmonal atau pneumonia komunitas bakterial menemukan bahwa NLR secara signifikan lebih rendah pada pasien dengan tuberkulosis pulmonal dibandingkan pneumonia komunitas ($3,67 \pm 2,12$ vs. $14,64 \pm 9,72$, $P < 0,001$). $NLR < 7$ merupakan nilai ambang yang optimal untuk membedakan tuberkulosis TB terhadap pneumonia komunitas bakterial (sensitivitas 91,1%, spesifisitas 81,9%; AUC 0,95 95% *confidence interval* [CI], 0,91 – 0,98).²² Penelitian tersebut mendukung hasil penelitian yang kami

temukan, yakni nilai NLR pada pasien dengan pneumonia lebih tinggi dibandingkan pasien dengan tuberkulosis pulmonal ($7,78 \pm 5,02$ vs. $5,46 \pm 3,85$; **Tabel 2**).

Ulkus diabetik merupakan suatu permasalahan kompleks, dengan klinis yang multifaktorial, dan dasar patofisiologi yang masih belum dipahami dengan baik.⁴⁶ Infeksi pada ulkus diabetik ditandai dengan adanya gejala sistemik (seperti, demam, menggigil, dan leukositosis). Infeksi pada ulkus diabetik seringkali menyebabkan morbiditas, perawatan dirumah sakit, dan amputasi. Kokus gram positif, terutama stafilokokkus dan streptokokkus, merupakan patogen yang dominan.^{46,47} Vatankhah N *et al* menemukan bahwa nilai NLR pada ulkus diabetik yang belum mengalami penyembuhan lebih tinggi dibandingkan ulkus diabetik yang telah sembuh ($P = 0,01$).⁴⁸ Selama inflamasi, bakteri akan menginvasi tubuh, melepaskan kemokin-kemokin *in vivo*, menginduksi pelepasan sitokin, menstimulasi kemotaksis, memproduksi dan melepaskan sejumlah besar neutrofil di dalam sumsum tulang, menyebabkan peningkatan neutrofil secara lokal dan sistemik. Di seluruh rangkaian reaksi tersebut sistem imun pasien mengalami penurunan, sejumlah besar limfosit T mengalami apoptosis, sel apoptosis akan menghambat sebagian besar limfosit T yang teraktivasi, dan penurunan aktivitas proliferasi limfosit T.⁴⁹

Seperti yang disebutkan sebelumnya, bahwa neutrofilia dan limfositopenia merupakan respon sistem imun *innate* yang fisiologis terhadap inflamasi sistemik. Sejumlah penelitian telah melaporkan bahwa, pada kondisi infeksi berat atau inflamasi sistemik, NLR akan meningkat sebagai akibat dari beratnya status klinis dan luaran klinis. Namun, hingga saat ini masih sangat sedikit informasi mengenai potensi penggunaan NLR dalam membedakan infeksi bakteri berat

terhadap infeksi virus. Pada penelitian ini, kami menemukan bahwa sejumlah penyakit akibat infeksi virus (hepatitis B, DHF, dan infeksi HIV) menunjukkan kadar NLR secara signifikan lebih rendah dibandingkan sejumlah penyakit ang umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri ($P < 0,001$). Holub M *et al* menunjukkan bahwa nilai median NLR pada pasien dengan infeksi bakteri lebih tinggi dibandingkan infeksi virus (2,86 [1,95 – 4,15] *vs* 1,86 [1,44 – 2,73]) dan NLR sebesar 6,2 ditentukan sebagai nilai ambang untuk membedakan infeksi bakteri dan infeksi virus dengan nilai sensitivitas sebesar 91% dan spesifisitas 96%.⁵⁰ Suatu penelitian retrospektif yang menggunakan data dari 52 pasien dengan DHF di Indonesia menemukan bahwa peningkatan derajat DHF secara signifikan berhubungan dengan penurunan nilai NLR ($P < 0,001$; $r_s = -0,687$).⁵¹ Infeksi virus menginduksi aktivasi limfosit, proliferasi limfosit yang tidak berdiferensiasi, dan sekresi antibodi atau sitokin/limfokin. Pertahanan imun terhadap infeksi virus lebih bergantung pada sel T dan kurang bergantung pada antibodi. Sel T sitotoksik sangat penting dalam menghancurkan sel yang terinfeksi virus. Sejumlah sitokin, termasuk interferon gamma dan *tumor necrosis factor* (TNF), disekresikan oleh sel T sitotoksik. Sehingga, hitung leukosit dan diferensiasinya mampu memberikan informasi yang sangat bermanfaat dalam membedakan infeksi bakteri dan virus; meskipun dengan sensitivitas dan spesifisitas yang buruk. Pemeriksaan lain, seperti kultur darah untuk bakteri dan analisa molekular untuk identifikasi virus, memerlukan waktu yang lama, berbiaya mahal, dan membutuhkan dukungan teknis yang lebih tinggi. Zhu Y *et al* berhasil membuktikan bahwa terdapat perbedaan pada sejumlah fitur limfosit antara infeksi bakteri dan virus, termasuk morfologi dan densitas dari limfosit, pada pasien dengan infeksi hepatitis B, hepatitis C, herpes virus, virus dengue,

dan HIV.⁵² Virus hepatitis B dan HIV diketahui mampu memicu terjadinya limfositosis yang akan menurunkan nilai NLR.⁵³

Leukopenia dengan gambaran neutropenia dan limfositosis relatif dipercaya sebagai temuan yang umum pada pasien dengan demam tifoid. Sehingga, penurunan NLR pada pasien tifoid umumnya dapat ditemukan.⁵⁴ Pada penelitian ini, kami menemukan bahwa rata-rata jumlah leukosit, neutrofil, dan limfosit pada pasien dengan demam tifoid masih dalam rentang yang normal (**Tabel 2**). Hasil tersebut mirip dengan hasil penelitian yang dilakukan Gaffar MSA *et al* terhadap 191 pasien dewasa dengan tifoid. Penelitian tersebut menemukan bahwa leukopenia hanya ditemukan pada 24,6%, neutropenia pada 25% pasien, dan tidak ditemukan adanya limfositosis.⁵⁴ Suatu penelitian observasional retrospektif terhadap 75 pasien dengan demam tifoid menemukan bahwa sebagian besar pasien menunjukkan hasil yang normal dan leukopenia hanya ditemukan pada 4%, temuan ini konsisten dengan yang ditemukan oleh Ahmet *et al* dan Rasoollinad *et al* yang menemukan bahwa leukopenia hanya ditemukan pada 18% dan 11,2% pasien.⁵⁵

Neutrofil, lebih dari 50% yang diproduksi oleh sumsum tulang, menjadi garda terdepan pada sistem pertahanan tubuh. Neutrofil tersebut bertanggung jawab terhadap produksi dari sejumlah enzim litik, radikal bebas oksigen, dan sitokin. Sitokin sangat berperan utama dalam sejumlah penyakit inflamasi, yang pada gilirannya, akan meningkatkan aktivasi dari neutrofil.⁵⁶ Sehingga, nilai NLR cenderung akan meningkat pada beberapa penyakit yang melibatkan inflamasi, meskipun NLR sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor.

5.2.2. Hubungan MLR terhadap diagnosa akhir

Rasio monosit-limfosit telah digunakan dalam beberapa penelitian untuk mengidentifikasi pasien terhadap sejumlah penyakit. Meskipun pemeriksaan darah lengkap seringkali dilakukan dalam praktik klinis, MLR belum menjadi parameter atau penanda biologis yang digunakan secara luas.⁵⁷ Pada penelitian ini kami menemukan bahwa pada beberapa pasien-pasien yang dicurigai mengalami infeksi bakterial (ISK, kolesistitiks akut, pneumonia, tuberkulosis paru, ulkus diabetik, dan demam tifoid) memiliki nilai MLR yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan pasien yang mengalami infeksi virus ataupun diagnosis klinis lainnya. Hasil ini sama dengan yang ditemukan oleh Naess A *et al* pada 299 pasien yang masuk ke unit gawat darurat dengan gejala utama demam. Penelitian tersebut melaporkan bahwa nilai MLR pada pasien dengan infeksi bakteri lebih tinggi dibandingkan infeksi virus, diagnosis klinis lain, dan tanpa infeksi (0,89, 0,25, 0,71, dan 0,46, masing-masing). Penemuan ini mengindikasikan bahwa MLR dapat membantu dalam memberikan diagnosis banding pada pasien dengan demam, dan dalam memutuskan pasien yang sebaiknya diberikan terapi antibiotik.² Djordjevic D *et al* melaporkan bahwa MLR ditemukan lebih tinggi pada pasien dengan infeksi bakteri pada 392 pasien yang dirawat di perawatan intensif dengan penyakit kritis. Kadar limfosit dan monosit juga ditemukan lebih tinggi pada pasien dengan diagnosis penyakit kritis yang dirawat di ruang perawatan intensif, dan berhubungan secara signifikan terhadap mortalitas. Monosit merupakan komponen respon imun *innate* yang penting. Komponen tersebut berperan sebagai penghubung ke sistem imun adaptif melalui presentasi antigen ke limfosit. Literatur terkait MLR terhadap sejumlah infeksi masih sangat jarang. Suatu penelitian yang menganalisa peranan

MLR terhadap pasien yang dirawat dengan demam akibat infeksi menunjukkan bahwa MLR bermanfaat terhadap infeksi bakteri dengan nilai AUC 0,688.¹

Monosit merupakan bagian dari leukosit yang bersirkulasi dan pada sejumlah jaringan dapat berdiferensiasi menjadi makrofag dan sel dendritik, termasuk pada infeksi virus, bakteri, dan jamur. Monosit pada aliran darah merupakan turunan dari prekursor pada sumsum tulang dan dapat terbagi menjadi berbagai ukuran dan ekspresi tertentu mengikuti stimulasi dari sitokin dan/atau molekul mikroba. Monosit memediasi pertahanan tubuh dan juga memiliki peran pada beberapa penyakit inflamasi, termasuk pada inflamasi steril yang telah terjadi secara kronik (seperti, artritis reumatoid).^{4,58}

Sel monosit dianggap sebagai sel target *Mycobacterium tuberculosis*, dan limfosit merupakan sel efektor utama dari imunitas tuberkulosis. Interaksi antara mikobakterium dan sistem imun pejamu mampu menunjukkan luaran dari tuberkulosis. Monosit/makrofag diturunkan dari sel punca hematopoietik sumsum tulang dan bersirkulasi pada aliran darah. Pada progresi infeksi tuberkulosis, monosit dapat melakukan fagositosis dan membatasi mikobakterium dan membentuk granuloma. Peningkatan MLR mengindikasikan peningkatan yang relatif pada monosit dan penurunan yang relatif pada limfosit.⁵⁹ Pada penelitian ini kami menemukan bahwa MLR pada pasien dengan tuberkulosis adalah $0,14 \pm 0,11$. Hasil tersebut cukup rendah dibandingkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wang W *et al.* Penelitian tersebut melaporkan bahwa median MLR pada pasien dengan tuberkulosis secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kontrol, 0,45 (0,28 – 0,67) dan 0,20 (0,17 – 0,25), masing-masing.⁵⁹ Buttle T *et al* juga melaporkan bahwa 59% pasien dengan hasil pemeriksaan basil tahan asam 3+ menunjukkan MLR > 0,45 dan hanya 33% pasien dengan nilai MLR < 0,45.⁶⁰

Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang telah diberikan sebelumnya di rumah sakit tingkat sekunder atau pelayanan kesehatan primer, sehingga mempengaruhi hasil yang ditemukan. Selain itu fungsi monosit juga dipengaruhi oleh usia. Peningkatan usia diketahui akan menurunkan fungsi dari monosit.⁶¹ Pada penelitian ini rata-rata usia pasien lebih tua dibandingkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.

5.2.3. Hubungan PLR terhadap diagnosa akhir

Trombosit terlibat dalam produksi sitokin yang berperan dalam sejumlah patogenesis penyakit-penyakit inflamasi, yang berarti bahwa aktivasi trombosit akan meningkat pada penyakit-penyakit inflamasi.^{62,63} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa trombosit juga memiliki peran aktif pada sistem imun. Seperti yang dijelaskan sebelumnya, pada kondisi infeksi bakteri limfosit akan mengalami penurunan akibat apoptosis, sehingga hal ini akan meningkatkan nilai PLR pada kondisi infeksi. Secara, khusus, pasien dengan infeksi bakteri gram positif ditemukan memiliki nilai PLR yang lebih rendah dibandingkan infeksi bakteri lainnya ataupun tanpa infeksi.¹ Penanda inflamasi seperti NLR dan PLR dilaporkan berhubungan dengan tingkat harapan hidup pasien, dan bermanfaat dalam mengetahui faktor prognostik pada beberapa penyakit. Peningkatan PLR diketahui berkaitan dengan mortalitas yang tinggi pada beberapa penyakit, termasuk penyakit terkait inflamasi.⁵⁶ Nilai PLR pada pasien dengan DHF dan hepatitis B ditemukan lebih rendah dibandingkan diagnosis yang lainnya. Hal ini mungkin dapat dijelaskan dengan ditemukannya penurunan jumlah trombosit pada pasien dengan DHF. Trombosit dari pasien yang terinfeksi virus dengue memiliki disfungsi mitokondria yang akan mengaktifkan kaskade apoptosis dan menyebabkan kematian sel. Trombositopenia yang berkepanjangan dapat

ditemukan pada DHF dibandingkan demam dengue.⁶³ Hasil yang kami temukan mirip dengan suatu penelitian retrospektif yang dilakukan oleh Irmayanti I *et al.* Penelitian tersebut menemukan bahwa seluruh pasien dengan DHF menunjukkan nilai trombosit yang rendah dan limfosit yang normal,⁵¹ sehingga memberikan kesan bahwa PLR pada pasien dengan DHF lebih rendah dibandingkan dewasa yang sehat.

Penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa PLR dan NLR berperan sebagai penanda biologis inflamasi sistemik. Sebelumnya, Zhao Z *et al* telah melakukan suatu penelitian yang membandingkan 172 pasien yang terinfeksi hepatitis B terhadap 40 orang dewasa yang sehat. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada pasien dengan hepatitis B menunjukkan nilai PLR yang lebih rendah dibandingkan orang dewasa yang sehat (72,1 – 181,0 vs. 204,4, masing-masing).⁶⁴ Hasil ini serupa yang ditemukan dalam penelitian ini, kami menemukan nilai PLR pada pasien dengan hepatitis B sebesar $72,3 \pm 40,4$; rata-rata trombosit $153,6 \pm 90,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan limfosit $2,2 \pm 0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$. Hepatitis B kronik telah diketahui sebagai suatu penyebab terjadinya trombositopenia, bahkan tanpa adanya sirosis. Meskipun demikian beberapa penelitian masih menunjukkan hasil yang berbeda satu dengan yang lainnya. Terdapat dua penjelasan terhadap hal ini. Pertama, jumlah pasien yang relatif kecil pada sejumlah penelitian. Kedua, hepatitis kronik merupakan kelompok penyakit yang heterogen, yang ditentukan oleh luasnya nekroinflamasi dan fibrosis pada hepar. Nwokediuko SC *et al* menemukan bahwa pasien hepatitis B dengan sirosis memiliki nilai trombosit yang rendah dibandingkan bentuk hepatitis B yang lainnya.⁶⁴

5.3. Kelemahan Penelitian

Penelitian ini memiliki sejumlah kelemahan. Pertama, penelitian ini masih memiliki ukuran sampel yang cukup kecil untuk memberikan gambaran yang lebih luas terhadap beberapa diagnosa akhir, terutama pada hepatitis B, sehingga hasil yang diperoleh mungkin memiliki bias dalam interpretasi hasil penelitian. Kedua, Penelitian ini tidak melibatkan sejumlah hasil pemeriksaan baku emas untuk diagnosa penyakit, sehingga pada sejumlah diagnosa akhir, etiologi yang mungkin menyebabkan perubahan pada sejumlah parameter inflamasi masih sulit untuk ditetapkan dan dijelaskan secara rinci. Ketiga, penelitian ini tidak mampu menyingkarkan adanya peranan ko-infeksi dalam nilai NLR, MLR, dan PLR yang menyertai diagnosis utama, sehingga nilai parameter-parameter tersebut tidak merepresentasikan nilai terisolir pada suatu diagnosis. Yang terakhir, penelitian ini dilakukan di tingkat pelayanan kesehatan tersier, sehingga pasien yang masuk ke unit gawat darurat sebagian besar merupakan rujukan dari fasilitas pelayanan kesehatan di tingkat yang lebih bawah dan kemungkinan telah mendapatkan terapi awal belum dapat disingkirkan.

Meskipun penelitian ini memiliki sejumlah kelemahan, penelitian ini mampu menemukan hubungan antara sejumlah parameter inflamasi terhadap diagnosa akhir pada pasien dengan gejala yang sangat umum, yakni demam. Sehingga, hasil dari penelitian ini sangat membantu klinisi dalam mempertimbangkan diagnosa banding pada pasien. Penelitian ini dilakukan di pusat pelayanankesehatan tingkat tersier yang melibatkan beragam etnik dan suku, sehingga hasil penelitian ini mampu menunjukkan kondisi umum di wilayah Sulawesi Selatan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- Terdapat hubungan antara NLR terhadap diagnosa akhir pada pasien dengan gejala utama demam. Secara umum, nilai NLR yang tinggi berkaitan dengan infeksi bakteri dan nilai NLR yang rendah berkaitan dengan infeksi virus atau diagnosa klinis yang lainnya.
- Terdapat hubungan antara MLR terhadap diagnosa akhir pada pasien dengan gejala utama demam. Nilai MLR yang tinggi ditemukan pada sejumlah penyakit dengan

kecurigaan/terkonfirmasi infeksi bakteri; tuberkulosis paru menunjukkan hal yang berlawanan.

- Terdapat hubungan antara PLR terhadap diagnosa akhir pada pasien dengan gejala utama demam. Penurunan nilai PLR umumnya disebabkan oleh adanya trombositopenia dan kadar limfosit yang meningkat/normal, yang dapat ditemukan pada penyakit DHF dan hepatitis B.

6.2. Saran

Penelitian ini sebaiknya dilakukan dengan menggunakan ukuran sampel yang lebih besar, untuk menggambarkan hasil yang lebih baik. Pada penelitian yang akan datang, analisa sensitivitas dan spesifisitas terhadap sejumlah parameter inflamasi sederhana ini dapat dilakukan pada masing-masing diagnosa akhir, sehingga akan memberikan manfaat yang lebih luas dan mempercepat pemberian terapi yang sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

1. Djordjevic D, Rondovic G, Subatovic M, Stanojevic I, Udovicic I, Andjelic T, et. al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Monocyte-to-Lymphocyte Ratio, Platelet-to-Lymphocyte Ratio, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count Ratio as Biomarkers in Critically Ill and Injured Patients: Which Ratio to Choose to Predict Outcome and Nature of Bacteremia?. *Mediators Inflamm.* 2018;X(X):2-3
2. Naess A, Nilssen SS, Mo R, and Eide GE. Role of Neutrophil to lymphocyte and monocyte to lymphocyte ratios in the diagnosis of bacterial infection in patients with fever. *Infection.* 2017;45:299-301
3. Wang J, Lu X, Zhang K, Gong H, Lv D, Ni Z, et al. Predictive role of monocyte-to-lymphocyte ratio patients with Klebsiella pneumonia infection: A single-center experience. *Medicine.* 2019;98(38):1
4. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(11):762

5. Assinger A. Platelets and Infection – An Emerging Role of Platelets in Viral Infection. *Front Immunol.* 2014;5:1
6. Witter AR, Okunnu BM, Berg RE. The Essential Role of Neutrophils During Infection with the Intracellular Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes*. *J Immunol.* 2016;197(5):1557
7. Evans SS, Repasky EA, and Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(6):335-349
8. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, and Lotze MT. PAMPs and DAMPs: Signals that Spur Autophagy and Immunity. *Immunol Rev.* 2012;249(1):158-9
9. Ogoina D. Fever, fever patterns and diseases called ‘fever’ – A review. *Jour Infect Public Health.* 2011;4:109-114
10. Walter EJ, Hanna-Jumma S, Carraretto M, Forni L. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Crit Care.* 2016;20(200):1
11. Blomqvist A, Engblom D. Neural Mechanisms of Inflammation-Induced Fever. *Neuroscientist.* 2018;24(4):382
12. Shah B, Burg N, and Pilinger MH. Chapter 11 : Neutrophils in Kelley and Firestein’s Textbook of Rheumatology 10th Ed. Elsevier. 2017. p. 169-180
13. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology.* 2013;13:159-60
14. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Mezler KD, Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to Disease. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:461-2
15. Mantovani A, Cassatella MA, Constantini, Jilka S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology.* 2011;11:519-20

16. Rosales C, Uribe-Querol E. Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity. *BioMed Research International*. 2017;X(X):1
17. Fournier BM, Parkos CA. The role of neutrophils during intestinal inflammation. *Mucosal Immunology*. 2012;5:355
18. Sheshachalam A, Srivastava N, Mitchell T, Lacy P, Eitzen G. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils. *Front Immunol*. 2014;5:1
19. Moss P, and Drayson M. Chapter 16 : Normal lymphocytes and non-neoplastic lymphocyte disorders in Postgraduate Haematology 7th Ed. *Wiley*. 2016. p.278-9
20. de Jager CPC, Wever PC, Gemen EFA, Kuster R, van Gageldonk-Lafeber AB, van der Poll T, et. al. The Neutrophil-Lymphocyte Count Ratio in Patients with Community-Acquired Pneumonia. *PloS One*. 2012;7(10):6-7
21. Alam R, and Gorska M. Lymphocyte. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:476-8
22. Karlmark KR, Tacke F, dan Dunay IR. Monocytes in Health and Disease – Minireview. *Europ Jour of Microbiol Immunol* 2. 2012;2:97-9
23. van Furth R, dan Beekhuizen H. Monocytes in Encyclopedia Immunology. *Elsevier*. 1998. p.1750-52
24. van der Meijden PEJ, dan Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspective. *Nature Rev Cardiol*. 2019;16(3):166-171
25. Lisman T. Platelet-neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. *Cell Tissue Res*. 2018;371:568
26. Jenne CN, dan Kubes P. Platelets in Inflammation and infection. *Platelets*. 2015;26(4):286-88
27. Thorley JD, Smith JW, Luby JP, and Sanford JP. Peripheral Blood Lymphocyte Response to Acute Infections in Humans. *Infect Immun*. 1977;16(1):113

28. Cai YJ, Dong JJ, Dong JZ, Yang NB, Song M, Wang YQ, *et al.* Neutrophil-lymphocyte ratio predicts hospital-acquired bacterial infection in decompensated cirrhosis. *Clin Chim Acta.* 2017;469:201-2
29. Paliogiannis P, Fois AG, Sotgia S, Mangoni AA, Zinellu P, Pirina P, *et al.* Neutrophil to lymphocyte ratio and clinical outcomes in COPD: recent evidence and future perspective. *European Respiratory Review.* 2018;27:1
30. Jie N, Hongye W, Yue L, Yimei S, Yihai L. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) as a prognostic marker for in-hospital mortality of patients with sepsis: A secondary analysis based on a single-center, retrospective cohort study. *Medicine.* 2019;98(46):1
31. Russel CD, Parajuli A, Gale HJ, Bulteel NS, Schuetz P, de Jager CPC, *et al.* The utility of peripheral blood leucocyte ratios as biomarkers in infectious diseases: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2019;78(5):339-40
32. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, dan Kitas GD. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med.* 2019;39(4):345-6
33. Zeren S, Bayhan Z, Kocak FE, Duzgun SA, Kahraman C, Ekici MF, *et. al.* Diagnostic value of platelet/lymphocyte ratio and neutrophil/lymphocyte ratio in investigations for helicobacter pylori gastritis. *Int J Clin Exp Med.* 2016;9(2):5102
34. Qin B, Ma N, Tang Q, Wei T, Yang M, Fu H, *et. al.* Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelet to lymphocyte ratio (PLR) were Useful Markers in Assessment of Inflammatory Response and Disease Activitay in SLE patients. *Modern Rheumatol.* 2015;26(3):372372-3
35. Yoon HY, Kim HN, Lee SH, Kim SJ, Chang Y, Ryu S, *et al.* Association between Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Gut Microbiota in a Large Population: a Retrospective Cross-Sectional Study. *Sci Rep.* 2018;8:1

36. Wyllie DH, Bowler ICJW, Peto TEA. Relation between lymphopenia and bacteraemia in UK adults with medical emergencies. *J Clin Pathol.* 2004;57(9):953
37. Yoon NB, Son C, Um SJ. Role of the Neutrophil-Lymphocyte Count Ratio in the Differential Diagnosis between Pulmonary Tuberculosis and Bacterial Community-Acquired Pneumonia. *Ann Lab Med.* 2013;33(2):105
38. Westerdijk K, Simons KS, Zegers M, Wever PC, Pickkers P, de Jager CPC. The value of the neutrophil-lymphocyte count ratio in the diagnosis of sepsis in patients admitted to the Intensive Care Unit: A retrospective cohort study. *PLoS ONE.* 2019;14(2):2
39. Lee WJ, Woo SH, Kim DH, Seol SH, Lee JY, Hong S. The neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with bacteremia in older adults visiting the emergency department with urinary tract infections. *Aging Clin Exp.* 2020;32:1129
40. Temizi A, Ozdemir Y, Aslan A, Bostanci MT, Atasoy G, Caparlar MA, *et al.* Role of Complete Blood Counts Parameters in Diagnosis of Acute Cholecystitis. *Acta Med Mediterran.* 2017;33:413
41. Matsushiro T, Sato T, Umezawa A, Tokumura H, Imaoka Y, Ouchi A, *et al.* Pathogenesis and the role of bacteria in acute cholecystitis. *J Hep Bil Pancr Surg.* 1997;4:93-4
42. Barie PS. Acute acalculous cholecystitis. In: Holzheimer RG, Mannick JA (eds.). *Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem-Oriented.* Munich: Zuckscherdt;2001
43. Cataudella E, Giraffa CM, Di Marca S, Pulvirenti A, Alaimo S, Pisano M, *et al.* Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker Predicting Prognosis in Elderly Adults with Community-Acquired Pneumonia. *JAGS.* 2017;65(8):2-5
44. Postma D, Schuurman J, van Wekhoven C, Oosterheert JJ, van Elden L, Bonten M. The neutrophil/lymphocyte ratio in predicting outcome for hospitalized patients with community-acquired pneumonia. *Eur Resp J.* 2014;44:2489

45. Boulton AJM, Armstrong DG, Harman MG, Malone M, Embil JM, Attinger CE, *et al.* Diagnosis and Management of Diabetic Foot Infections. Arlington: *American Diabetes Association*; 2020 Available from : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554227/> [Accessed July 20th 2020]
46. Lipsky BA. Medical Treatment of Diabetic Foot Infections. *Clin Infect Dis.* 2004;39:104
47. Hobizal KB, Wukich D. Diabetic foot infections: current concept review. *Diabet Foot Ankle.* 2012;3(10):2-3
48. Vatankhah N, Jahangiri Y, Landry GJ, McLafferty RB, Alkayed NJ, Moneta GL, Azarbal AF. Predictive value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in diabetic wound healing. *J Vasc Surg.* 2018;65(2):479-80
49. Qu J, Yuan HY, Huang Y, Qu Q, Yang ZB, Li GH, Zhu HH, *et al.* Evaluation of neutrophil-lymphocyte ratio in predicting bloodstream infection. *Biomark Med.* 2019;13(15):1255-6
50. Holub M, Beran O, Kasprikova N, Chalupa P. Neutrophil to lymphocyte count ratio as a biomarker of bacterial infections. *Open Medicine.* 2012;7(2):258-61
51. Irmayanti I, Nurulita A, Sennang N. Neutrophil/Lymphocyte Count Ratio on dengue Hemorrhagic Fever. *Indonesian Journal of clinical Pathology and Medical Laboratory.* 2017;23(3):237
52. Zhu Y, Cao X, Tao G, Xie W, Hu Z, Xu D. The lymph index: a potential hematological parameter for viral infection. *Int J Infect Dis.* 2013;17(7):490-3
53. Hamad H, Mangla A. Lymphocytosis. Treasure Island: StatPearls Publishing;2020 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549819/> (Accessed July 1st, 2020)
54. Gaffar MSA, Seedat YK, Coovadia YM, Khan Q. The White Cell Count in Thyphoid Fever. *Trop Geogr Med.* 1992;44(1-2):23

55. Abro AH, Abdou AMS, Gangwani JL, Ustadi AM, Younis NJ, Hussaini HS. Hematological and Biochemical Changes Thyroid Fever. *Pak J Med Sci.* 2009;25(2):167-70
56. Uslu AU, Kucuk A, Sahin A, Ugan Y, Yilmaz R, Gungor T, *et al.* Two new inflammatory markers associated with Disease Activity Score-28 in patients with rheumatoid arthritis: neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio. *Int J Rheum Dis.* 2015;18(7):2-4
57. Naranchai V, Fletcher HA, Tanner R, O'Shea MK, McShane H, Fairfax BP, *et al.* Distinct Transcriptional and Anti-Mycobacterial Profiles of Peripheral Blood Monocytes Dependent on the Ratio of Monocytes: Lymphocytes. *Ebiomedicine.* 2015;2(11):1619-20
58. Xiong H, Pamer EG. Monocytes and Infection: Modular, Messenger and Effector. *Immunobiology.* 2015;220(2):211-12
59. Wang W, Wang L, Liu Y, Yang F, Zhu L, Zhang X. Value of the Ratio of Monocytes to Lymphocytes for Monitoring Tuberculosis Therapy. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology.* 2019;X(X):3-4
60. Buttle T, Bothamley G. The meaning of a high monocyte to lymphocyte ratio in tuberculosis. *European Respiratory Journal.* 2019;54(63):561
61. Nielsen H, Blom J, Larsen SO. Human Blood Monocyte function in Relation to Age. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand C.* 1984;92(1):5
62. Lee JS, Kim NY, Na SH, Youn YH, Shin CS. Reference values of neutrophil-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in healthy adults in South Korea. *Medicine.* 2018;97(26):3-4
63. Chaloeuwong J, Tantiworawit A, Rattanathammethee T, Hantrakool S, Chai-Adisaksopha C, Rattarittamrong E, *et al.* Useful clinical features and hematological

parameters for the diagnosis of dengue infection in patients with acute febrile illness: a retrospective study. *BMC Hematol.* 2018;18(20):3-6

64. Nwokediuko SC, Ibegbulan O. Quantitative Platelet Abnormalities in Patients with Hepatitis B Virus-Related Liver Disease. *Gastroenterology Res.* 2009;2(6):344-8