

## ***Borrelia burgdorferi* ile Doğal Enfekte Köpeklerin Nötrofil-Lenfosit, Monosit-Lenfosit ve Platelet-Lenfosit Oranlarının Belirlenmesi\***

**Kübra Çakır<sup>1</sup>, Didem Pekmezci<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Vet-life Veteriner Kliniği, Kartepe, Kocaeli, Türkiye

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

**Geliş Tarihi / Received:** 13.05.2019, **Kabul Tarihi / Accepted:** 10.06.2019

**Özet:** Lyme hastalığı ya da Borreliozis; *Borrelia burgdorferi* adlı spiroket şekilli bir bakterinin neden olduğu, dünyada köpeklerde ve insanlarda yaygın olarak görülen, başlıca *Ixodes* cinsi kenelerle bulaşan, kalp, eklemler ve sinir sisteminde bozukluklarla karakterize ve kronikleşebilen enfeksiyöz bir hastalıktır. Günümüzde sistemik inflamatuvar yanıtın komplementleri olan nötrofil-lenfosit oranı (NLO), monosit-lenfosit oranı (MLO) ve platelet-lenfosit oranı (PLO) birçok hastalık prognozunun değerlendirilmesi ve prediktif parametreler olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız ise ilk defa kronik bir inflamasyona neden olan *B. burgdorferi*'i yönünden doğal enfekte seropozitif köpekler ile seronegatif köpeklerin tedavi öncesi başüstü parametreleri olan nötrofil (NEU), NLO, lenfosit (LYM), monosit (MONO), MLO, platelet (PLT) ve PLO değerlerinin karşılaştırılmasıdır. Yirmi dört adet sahipli köpektan tedavi öncesi alınan tam kan ve serum örnekleri çalışma materyalini oluşturmuştur. Serum örneklerinin *B. burgdorferi*'ye karşı oluşan IgG antikor yanıtı ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Sonrasında bu 7 adet seropozitif örnek Western Blot yöntemi ile doğrulanmıştır. Gruplar arası NEU, NLO, MONO, MLO, PLT ve PLO değerleri karşılaştırılmış ancak, istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Sonuç olarak Lyme hastalığı yönünden seropozitif köpekler ile seronegatif köpeklerin ilk kez NLO, MLO, ve PLO değerlerinin karşılaştırıldığı mevcut çalışma ile uygulaması kolay ve düşük maliyetli sistemik inflamasyon belirteçlerinin veteriner pratikteki kullanımlarının genişletilmesi yönündeki gerçekleştirilecek çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Köpek, *Borrelia burgdorferi*, nötrofil-lenfosit, monosit-lenfosit, platelet-lenfosit, oran

### **Detection of Neutrophil–Lymphocyte, Monocyte–Lymphocyte and Platelet–Lymphocyte Ratios in Dogs Naturally Infected with *Borrelia burgdorferi***

**Abstract:** Lyme disease or Borreliosis; is a commonly seen infectious disease in the dogs and men worldwide which caused by a spirochete shaped bacterium called *B. burgdorferi*, mainly transmitted with the *Ixodes* species of ticks and affects heart, joints and characterized with neurological system disorders. Nowadays, as being components of the systemic inflammatory response, the neutrophil-lymphocyte (NLR), monocyte-lymphocyte (MLR) and platelet-lymphocyte ratios (PLR) are used as predicting parameters for the evaluation of the progression of various diseases. Our interest in the current study is to determine whether pretreatment NEU, NLR, LYM, MONO, MLR, PLT and PLR levels as bedside markers, differ in seropositive dogs naturally infected with *B. burgdorferi* which leads a chronic inflammation from seronegative dogs for the first time. Twenty four whole blood and serum samples of the client-owned dogs formed the study material. Seven of the serum samples were showed IgG against *B. burgdorferi* by ELISA and detected as seropositive. Later these 7 seropositive dogs were confirmed by Western Blot method. NEU, NLR, MONO, MLR, PLT and PLR levels were compared between groups, but there were not found any statistical significance for these parameters between groups. Consequently, it is thought that within this study, which firstly compared the NLO, MLO, and PLO values of seropositive dogs and seronegative dogs in terms of Lyme disease, is thought to contribute to the studies to be carried out in order to expand the use of these easily applicable and low cost systemic inflammation markers in veterinary practice.

**Key words:** Dog, *Borrelia burgdorferi*, neutrophil-lymphocyte, monocyte-lymphocyte platelet-lymphocyte, ratio

### **Giriş**

Lyme hastalığı ya da Borreliozis; *Borrelia burgdorferi* adlı spiroket şekilli bir bakterinin neden olduğu, dünyada yaygın olarak görülen, başlıca *Ixodes* cinsi kenelerle bulaşan, kalp, eklemler ve sinir sistemin-

de bozukluklarla karakterize, ancak birçok organı da etkileyen ve kronikleşebilen enfeksiyöz bir hastalıktır. Köpek Borreliozis'i ise ilk kez 1980'lerde Amerika Birleşik Devletleri'nde tanımlanmış ve kısa zamanda tüm dünyaya yayılmıştır [9].

\* Bu çalışma Kübra Çakır'ın Yüksek Lisans Tez'inden üretilmiştir.

**Yazışma adresi / Correspondence:** Vet. Hekim Kübra Çakır, (ORCID: 0000-0001-7488-1400), Vet-life Veteriner Kliniği, Kartepe, Kocaeli E-posta: k\_yarimbasm@hotmail.com

Köpeklerde Lyme hastalığı birçok organ ve sistemi etkilemekte birlikte, en sık eklemlerin etkilendiği rapor edilmiştir [7, 10]. Hastalık her yaşta köpekte eroziv olmayan artrit, topallık, ağrı, ateş ( $T > 39,5^{\circ}\text{C}$ ), iştahsızlık, lenfadenopati ve yorgunluk şeklinde görülürken, yaşlı köpeklerde böbrek yetmezliğinin daha sık görüldüğü belirlenmiştir [10]. Miyokarditis ve endokarditis gibi kardiak bozuklukların hastalıkta nadir olarak oluştuğu ortaya konulmuştur [7].

Köpeklerde lyme hastalığının eroziv veya eroziv olmayan artrit formlarının dışında şekillenen nefropati formunda ödemli vaskülit veya efüzyon; olası körlük veya kalp üfürümlü hipertansiyon; tromboembolik olaylar ve bazen vaskülit, hipertansiyon, üremik ensefalopati veya menenjitin nörolojik belirtileri (örneğin, nöbet, nistagmus, kollaps) gibi semptomlar görülebilmektedir [4, 20].

Bu sendromdaki laboratuvar anormalliklerini ise dejeneratif olmayan anemi, stres lökogramı, trombositopeni, hipoalbuminemi, azotemi, hiperkolesterolemi, hiperfosfatemi ve bazen hiperkalemi ve hiperbilirubinemi oluşturmaktadır. İdrar muayenesinde proteinüri ve hemoglobinüri, hematüri, glukozüri, bilirubinüri ve negatif bakteri kültürü ile aktif bir sedimentasyonda azalma görülebilmektedir. Çoğu vaka oligürik veya anürik olup böbrek yetmezliği nedeni ile hasta köpekler ölebilmektedir [6, 4, 15, 20].

Çoğu zaman immün ilişkili mediyatörlerin oldukça geniş ve karmaşık sraya sahip olmaları, kritik hastalıklarda immün yanıtın değerlendirilmesinde kullanılacak uygun biyokimyasal parametrelerden iyi bir prediktif belirteç olarak yararlanmayı mümkün kılmamaktadır [5]. Son zamanlarda hali hazırda kolaylıkla elimizin altında bulunan tam kan sayımından köken alan oranlar, henüz herhangi bir konsensus oluşturulmamasına rağmen potansiyel biyokimyasal belirteçler olarak beşeri hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır [14, 16, 26].

Glasgow Prognostik Skoru'nun yanında sistemik inflamatuvar yanıtın komplementleri olarak nötrofil-lenfosit oranı (NLO), monosit-lenfosit oranı (MLO) ve platelet-lenfosit oranı (PLO) yer almaktadır [8, 18]. Son zamanlarda bu oranlar karsinogenezis ve tümör progresyonun değerlendirilmesinin yanı sıra birçok inflamasyon ilişkili hastalıklarda örneğin kardiyovasküler hastalıklar [13], malignan-

siler [22], otoimmün hastalıklar [3, 24], akut pankreatitis [23], kronik obstruktif pulmoner hastalıklar [12, 25], overiyar apselerde, Chron hastalığı ve siroziste prognozun değerlendirilmesinde prediktif parametreler olarak kullanılmaktadır [1]. Ucuz ve kolaylıkla erişilebilecek olan bu oran ve skorlamaların henüz veteriner hekimlikte kullanılması için çok sayıda kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın amacı ise ilk defa kronik bir inflamasyona neden olan *B. burgdorferi*'nin neden olduğu lyme hastalığı yönünden seropozitif köpekler ile seronegatif köpeklerin NEU, NLO, MONO, MLO, PLT ve PLO değerlerinin karşılaştırılmasıdır.

## Materyal ve Metot

### Çalışma Materyali

Çalışma materyalini, Nisan 2017 ile Haziran 2018 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne tedavi veya kontrol amacıyla getirilen sahipli, çeşitli ırk ve yaşlarda, dişi ve erkek toplam 24 adet köpek oluşturmuştur. Çalışmaya daha önce *B. burgdorferi*'ye karşı aşılammamış ve Lyme hastalığı yönünden herhangi bir tedavi görmemiş toplam 24 adet köpek dâhil edilmiştir. Serolojik olarak *B. burgdorferi* yönünden pozitif kabul edilen 7 adet köpek deney grubunu oluştururken, geriye kalan ve serolojik olarak negatif kabul edilen 17 adet köpek ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışma yerel hayvan etik kurulunca onaylanmıştır (2016/64).

### Total Kan Sayımı

Rutin muayenede tedavi öncesi 2 ml EDTA'lı tüplere, 5 ml kuru tüplere alınmış olan kan örnekleri çalışma materyali olarak kullanılmıştır. EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri total kan sayımı için sayım öncesi karıştırıcıda orta devirde karıştırılıp çalışmaya hazır hale getirilmiş, sonrasında 24 adet tam kan örneği BC-5000 Vet Auto Hematoloji cihazıyla çalışılmış ve sonuçlar (WBC, NEU, LYM, MONO, EOS, LY%, MONO%, EOS%, NEU%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD, PLT, PCT, MPV, PDW) kayıt altına alınmıştır. Çalışma köpeklerine ait tam kan sayımı değerlerinden NLO (nötrofil/lenfosit), MLO (monosit/lenfosit) ve PLO (platelet/lenfosit), lenfosit sayılarının sırası ile nötrofil, monosit ve platelet sayılarına ayrı ayrı

bölünerek hesaplanmasından elde edilmiştir [19]. Lyme hastalığının serolojik tanısı amacıyla jelli tüplere alınan örnekler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları 2 farklı ependorf tüpüne aktarılarak çalışılana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### Serolojik Olarak Köpek Spesifik Anti *B. burgdorferi* IgG Seviyelerinin ELISA Yöntemi ile Tespiti

Köpeklerden alınan serum örnekleri öncelikle *B. burgdorferi*'ye karşı oluşan IgG antikor yanıtını belirlemek amacı ile EUROIMMUN® Anti-Borrelia ELISA Köpek IgG (Lübeck, Germany) kitleriyle üretici firmanın direktiflerine uygun olarak çalışılmış ve 450 nm'de ELISA okuyucuda okutulmuştur. Elde edilen okuma değerleri prospektüste belirtilen yöntemle göre hesaplanmış ve test sonucunda kalibrasyona ait değerlere bölünerek son değerlere ulaşılmıştır. Her bir örneğin pozitif, negatif ya da sınırdaki pozitifliği belirlenmiştir.

### Serolojik Olarak Köpek Spesifik Anti *B. burgdorferi* IgG Pozitif Köpeklerin Western Blot Yöntemi ile Doğrulanması

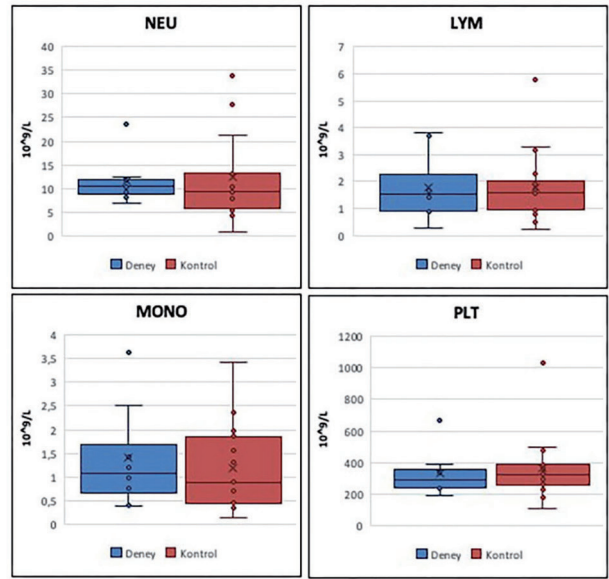
ELISA yöntemi ile pozitif bulunan serum örnekleri, EUROIMMUN® Anti-Borrelia EUROLINE Köpek IgG (Lübeck, Germany) kitleri ile çalışılmıştır. Test görsel olarak değerlendirilmiş olup, her bir örneğin verdiği bant sayısı ve çeşidine göre değerlendirme yapılmıştır. Spesifik antijen bant değerlendirmesinde; VisE, P100, P39, OspA (p31), OspC (P25), p21, p18 yer almaktadır. Sonuçlar üretici firmanın direktiflerine göre firmanın göndermiş olduğu test kontrol kâğıtlarının üzerinde görsel olarak değerlendirilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

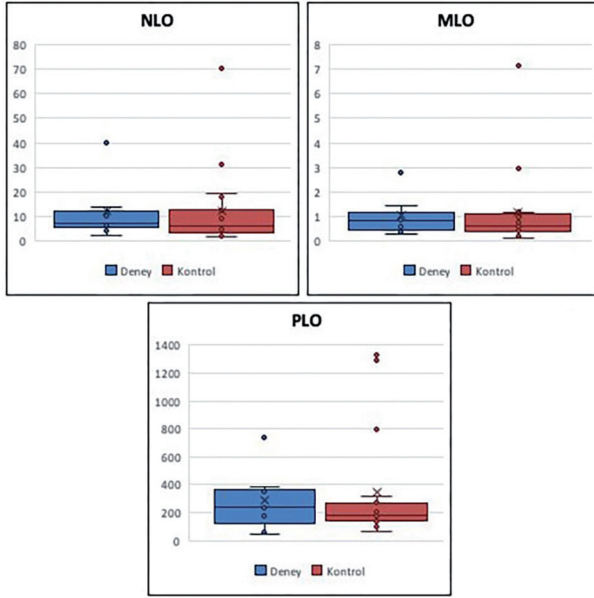
Çalışmaya dâhil edilen tüm köpeklerin NEU, LYM, MONO, PLT, NLO, MLO ve PLO değerlerinin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek amacı ile Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Sonrasında deney ve kontrol grubu arasında NEU, LYM, MONO, PLT, NLO, MLO ve PLO değerlerinin karşılaştırılmasında ise Student t testi uygulanmıştır.

### Bulgular

Çalışma materyalini oluşturan 24 köpeğin, 7'si *B. burgdorferi*'ye karşı oluşan anti IgG antikor yönünden seropozitif olarak bulunurken, 17 köpek seronegatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 1). Deney grubunu oluşturan 7 köpeğin seropozitiflikleri ise sonrasında Western Blot yöntemi ile doğrulanmıştır. Deney ve kontrol gruplarına ait NEU, LYM, MONO, PLT değerleri Figür 1'de gösterilmiştir. Deney ve kontrol gruplarına ait NLO, MLO, PLO değerleri ise Figür 2'de gösterilmiştir.



**Figür-1:** *Borrelia burgdorferi* ile doğal enfekte seropozitif (Deney grubu; mavi renkli) ve seronegatif köpeklerin (Kontrol grubu; kırmızı renk) tedavi öncesi NEU, LYM, MONO ve PLT değerlerinin sunulduğu Kutu-Bıyık grafikleri (Box-and-whiskers plot). Orta Kutu, gözlemin %50'sini oluşturmaktadır; kutunun alt kısmı birinci çeyrekliği ve kutunun üstü üçüncü çeyrekliği oluşturmaktadır. Kutunun ortasındaki yatay çizgi ise medyandır. Her kutudaki çarpı işareti o kutuya ait ortalama değeri vermektedir. Bıyıklar, çeyrekler arası aralıktan 1,5 kez çıkartılan en küçük ve en büyük gözlemlere kadar uzanmaktadır ve ayrı ayrı noktalar halinde belirtilmişlerdir.



**Figür-2:** *Borrelia burgdorferi* ile doğal enfekte seropozitif (Deney grubu; mavi renkli) ve seronegatif köpeklerin (Kontrol grubu; kırmızı renk) tedavi öncesi NLO, MLO ve PLO değerlerinin sunulduğu Kutu-Bıyık grafikleri (Box-and-whiskers plot). Orta Kutu, gözlemin %50'sini oluşturmaktadır; kutunun alt kısmı birinci çeyrekliği ve kutunun üstü üçüncü çeyrekliği oluşturmaktadır. Kutunun ortasındaki yatay çizgi ise medyandır. Her kutudaki çarpı işareti o kutuya ait ortalama değeri vermektedir. Bıyıklar, çeyrekler arası aralıktan 1,5 kez çıkartılan en küçük ve en büyük gözlemlere kadar uzanmaktadır ve ayrı ayrı noktalar halinde belirtilmişlerdir.

**Tablo 1.** Çalışma materyalini oluşturan 24 köpeğin ırk, yaş ve cinsiyetlerine ait veriler.

| Anti <i>B. burgdorferi</i> IgG yönünden pozitif köpekler |         |          |  |
|--|---------|----------|--|
| İrk  | Yaş     | Cinsiyet | Uygulama ve Araştırma Hastanesine Getiriliş Nedeni |
| Golden Retriever   | 8       | Dişi     | Genel Muayene                                      |
| Rottweiler   | 5       | Erkek    | Belirtilmemiş                                      |
| Mastiff  | 5       | Erkek    | Topallık   |
| Akbaş  | 5 aylık | Erkek    | Gastritis  |
| Pointer  | 6 aylık | Erkek    | Çam Kese Böceği Toksikasyonu                       |
| Doberman Pinscher  | 10      | Dişi     | Piyometra  |
| Golden Retriever   | 11      | Dişi     | Atopik Dermatit                                    |
| Anti <i>B. burgdorferi</i> IgG yönünden negatif köpekler |         |          |  |
| İrk  | Yaş     | Cinsiyet | Uygulama ve Araştırma Hastanesine Getiriliş Nedeni |
| İngiliz Pointer  | 1       | Erkek    | Genel Muayene                                      |
| Golden Retriever   | 6       | Erkek    | Genel Muayene                                      |
| Melez  | 6 aylık | Dişi     | Belirtilmemiş                                      |
| Melez  | 9 aylık | Dişi     | Belirtilmemiş                                      |
| Setter   | 2       | Erkek    | Ovariohistektomi                                   |
| Pointer  | 1       | Erkek    | Gastritis  |
| Alman Çoban Köpeği                                       | 8       | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Kangal   | 6 aylık | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Labrador Retriever                                       | 9       | Dişi     | Ovariohistektomi                                   |
| Melez  | 2       | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 8 aylık | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 4 aylık | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 4 aylık | Erkek    | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 15      | Dişi     | Genel Kontrol                                      |
| Belçika Malinois   | 1       | Erkek    | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 5 aylık | Erkek    | Genel Kontrol                                      |
| Melez  | 3       | Erkek    | Genel Kontrol                                      |



## Tartışma

Lyme hastalıklı insanlar ve köpeklerde hematolojik ve serum biyokimyasal değerler genellikle normal sınırlar içerisinde yer almaktadır [15]. Benzer sonuçlar çalışmamız içinde geçerli olmuştur. Zira deney grubuna ait ortalama NEU, LYM, MONO, PLT değerleri sırası ile  $9,5 \times 10^9/L$ ,  $2,05 \times 10^9/L$ ,  $0,742 \times 10^9/L$  ve  $318,68 \times 10^9/L$  olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Scorpio ve ark. [21] yapmış oldukları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Sunulan çalışmada deney ve kontrol grubunun NEU, LYM, MONO, PLT değerlerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak bir farklılık ( $P > 0.05$ ) tespit edilememiştir.

Deney ve kontrol gruplarının NLO, MLO ve PLO değerlerinin karşılaştırılmasında ise yine istatistiksel olarak bir farklılık ( $P > 0.05$ ) olmamakla beraber deney grubunun NLO ortalama değerinin (7,2), kontrol grubuna göre (5,2) yüksek olduğu belirlenmiştir. Bazı çalışmalarda lokal lenfositik yanıtın, invazif yapıdaki lenfositik reaksiyonlar gibi değerlendirilmeleri neticesinde düşük NLO oranı ile karşılaşıldığını ve bunun sonucunda ise prognoz daha iyi olduğu bildirilmektedir [17]. Mevcut çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla deney grubunun yüksek LYM değerine sahip olmasına rağmen yine deney NLO değerinin de yüksek olduğu tespit edilmektedir. Bu durum çalışmamızdaki deney ve kontrol grup örnek sayılarının düşük olması ile açıklanabilir. MLO değerleri bakımından mevcut çalışmada deney (0,7) ve kontrol grubu (0,6) karşılaştırılmasında yine istatistiksel bir farklılık ( $P > 0.05$ ) bulunmamıştır.

Deney ve kontrol gruplarının PLT ve PLO değerleri bakımından karşılaştırılmalarında yine istatistiksel bir farklılık ( $P > 0.05$ ) tespit edilememiştir. Bununla birlikte deney PLO değerinin (241,2) kontrol grubuna göre (182,8) yüksek bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımız Scorpio ve ark. [21]'nin yapmış oldukları ve PLT bakımından seropozitif ve negatif köpekleri karşılaştırdıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar çalışmalarında seropozitif köpeklerin PLT değerlerinin ( $286,78 \times 10^9/L$ ) seronegatif olanlara ( $202,42 \times 10^9/L$ ) istatistiksel olarak bir farklılık göstermediğini tespit etmişlerdir [21]. Yapılan son çalışmalar plateletlerin sistemik inflamasyonda özellikle de athe-

rogeneziste oldukça önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir [11]. Plateletler birçok farklı hücre tipleri ile örneğin endotelial ve dendritik hücreler, T-lenfositler, ve mononükleer fagositler ile etkileşim içindedir [2]. Çalışmamızda Lyme hastalıklı köpeklerde PLO'nun yükselme eğiliminde olduğu söylenebilir. Değerlendirmede PLO'nun yüksek bulunması ise bu hastalardaki sistemik inflamasyonun da yüksek olabileceğini göstermektedir. Son yıllarda beşeri hekimlikte uygulama kolaylığı ve düşük maliyetinden ötürü NLO, MLO ve PLO değerleri sayısız hastalığın prognozunu değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Beşeri hekimlikte meta analizler doğrultusunda tüm inflamatuvar yanıtta sitokin ve akut faz proteinleri ile korrelasyonları valide edilmiş NLO, MLO ve PLO'nun *B. burgdorferi* yönünden seropozitif ve negatif köpeklerde değerlendirildiği çalışmamızda örnek sayımızın her iki grupta az olması çalışmamızı kısıtlayan en önemli nedeni oluşturmaktadır.

## Sonuç

Kronik inflamasyona neden olan *B. burgdorferi*'nin neden olduğu Lyme hastalığı yönünden seropozitif köpekler ile seronegatif köpeklerin ilk kez NLO, MLO ve PLO değerlerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada, NLO ve PLO değerlerinin Lyme yönünden seropozitif köpeklerde yükselme eğiliminde olduğu söylenebilir. Sonuç olarak, bu çalışma ile uygulaması kolay ve düşük maliyetli sistemik inflamasyon belirteçlerinin veteriner pratikteki kullanımlarının genişletilmesi yönünde gerçekleştirilecek çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## Teşekkür

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.17.020 proje numarası ile desteklenmiştir. Ayrıca çalışmanın istatistiğini yapan Prof. Dr. Filiz Akdağ'a şükranlarımızı sunarız.

## Kaynaklar

1. Alay I, Kaya C, Karaca I, Eren E, Hoşgören M, Aslanova F, Cengiz ME, Yasar, L. (2019). The effectiveness of neutrophil to lymphocyte ratio in prediction of medical treatment failure for tubo-ovarian abscess. J Obstet Gynaecol Res. doi:10.1111/jog.13946

2. Borrisoff JI, Spronk HM, ten Cate H, (2011). The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 364, 1746-1776.
3. Chandrashekara S, Mukhtar Ahmad M, Renuka P, Anupama KR, Renuka K, (2017). Characterization of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a measure of inflammation in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 20, 1457-1467.
4. Dambach DM, Smith CA, Lewis RM, Van Winkle TJ, (1997). Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection: 49 cases (1987–1992). *Vet Pathol.* 34, 85-96.
5. Djordjevic D, Rondovic G, Surbatovic M, Stanojevic I, Udovicic I, Andjelic T, Zeba S, Milosavljevic S, Stankovic N, Abazovic D, Jevdjic J, Vojvodic D, (2018). 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, 3758068.
6. Grauer GF, Burgess EC, Cooley AJ, (1988). Renal lesions associated with Lyme borreliosis in a dog. *J Am Vet Assoc.* 193, 237-239.
7. Greene RT, (1991). Canine Lyme borreliosis. *Vet Clin N Am Small Anim.* 21, 51-64.
8. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ, (2013). The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 88, 218-230.
9. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, (1997). Lyme disease. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, p. 964-971.
10. Kornblatt AN, Urband PH, Stere AC, (1985). Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 186, 960-964.
11. Koyama H, Maeno T, Fukumoto S, Shoji T, Yamane T, Yokoyama H, Emoto M, Shoji T, Tahara H, Inaba M, Hino M, Shioi A, Miki T, Nishizawa Y, (2003). Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation.* 108, 524-529.
12. Kurtipek E, Bekci TT, Kesli R, Sami SS, Terzi Y, (2015). The role of neutrophil lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Pak Med Assoc.* 65, 1283-1287.
13. Li H, Zhou Y, Ma Y, Han S, Zhou L, (2017). The prognostic value of the platelet-to lymphocyte ratio in acute coronary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Kardiol Pol.* 75, 666-673.
14. Liu X, Shen Y, Wang H, Ge Q, Fei A, Pan S, (2016). Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with sepsis: a prospective observational study. *Mediators Inflamm.* 2016, 8191254.
15. Magnarelli LA, Anderson JF, Schreier AB, (1987). Clinical and serologic studies of canine borreliosis, *J Am Vet Med Assoc.* 19, 1089-1094.
16. Naess A, Nilssen SS, Mo R, Eide GE, Sjørusen H, (2017). Role of neutrophil to lymphocyte and monocyte to lymphocyte ratios in the diagnosis of bacterial infection in patients with fever. *Infection,* 45, 299-307.
17. Pine JK, Morris E, Hutchins GG, West NP, Jayne DG, Quirke P, Prasad KR, (2015). Systemic neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: the relationship to patient survival, tumor biology and local lymphocytic response to tumor. *Br J Cancer.* 113, 204-211.
18. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, Balmer SM, Fletcher CD, O'Reilly DSJ, Foulis AK, Horgan PG, McMillan DC, (2011). A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer.* 47, 2633-2641.
19. Rossi S, Basso M, Strippoli A, Schinzari G, D'Argento E, Larocca M, Cassano A, Barone C, (2017). Are markers of systemic inflammation good prognostic indicators in colorectal cancer? *Clin Colorectal Cancer.* 16, 264-274.
20. Sanders NA, (2000). Canine Lyme nephritis Proc. 18th ACVIM Forum, 627-628.
21. Scorpio DG, Wachtman LM, Tunin RS, Barat NC, Garyu JW, Dumler JS, (2008). Retrospective clinical and molecular analysis of conditioned laboratory dogs (*Canis familiaris*) with serologic reactions to *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, and *Rickettsia rickettsii*. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 47, 23-28.
22. Shi L, Qin X, Wang H, Xia Y, Li Y, Chen X, Shang L, Tai YT, Feng X, Acharya P, Acharya, C, Xu Y, Deng S, Hao M, Zou D, Zhao Y, Ru K, Qiu L, An G, (2017). Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio and monocyte-to-lymphocyte ratio and decreased platelet-to-lymphocyte ratio are associated with poor prognosis in multiple myeloma. *Oncotarget.* 8, 18792-18801.
23. Wang Y, Fuentes HE, Attar BM, Jaiswal P, Demetria M, (2017). Evaluation of the prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with hypertriglyceridemia induced acute pancreatitis. *Pancreatology.* 17, 893-897.
24. Yang Z, Zhang Z, Lin F, Ren Y, Liu D, Zhong R, Liang Y, (2017). Comparisons of neutrophil-, monocyte-, eosinophil-, and basophil- lymphocyte ratios among various systemic autoimmune rheumatic diseases. *APMIS.* 125, 863-871.
25. Yao C, Liu X, Tang Z, (2017). Prognostic role of neutrophil-lymphocyte ratio and platelet- lymphocyte ratio for hospital mortality in patients with AECOPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 12, 2285-2290.
26. Zheng CF, Liu WY, Zeng FF, Zheng MH, Shi HY, Zhou Y, Pan JY, (2017). Prognostic value of platelet-to-lymphocyte ratios among critically ill patients with acute kidney injury. *Critical Care.* 21, 238.