

Diagnostische aspecten van Borrelia-infecties bij de hond

K.E. Hovius¹ en D.J. Houwers²

Uit en
voor de
praktijk

De ziekte van Lyme, of Lyme-borreliose, is een immuungemedieerde ziekte van de mens, die kan ontstaan na infectie met de spirocheten uit de *Borrelia*-familie. In Nederland komen naast de enige Amerikaanse soort *Borrelia burgdorferi*, die in Europa is geïmporteerd, nog minstens drie andere soorten voor die potentieel pathogeen zijn: *B. garinii*, *B. afzelii* en *B. valaisiana*.

Kleine zoogdieren (voornamelijk bosmuizen) en vogels zijn het reservoir voor *Borrelia*-bacteriën en de teek *Ixodes ricinus* fungeert als vector (figuur 1) (1). De tekendichtheid en ook het percentage met *Borrelia* geïnfekteerde teken lijken toe te nemen en variëren per locatie (2). Zo vormen de Brabantse Kempen een hotspot voor teken en *Borrelia* (zie verder). Ook honden kunnen worden geïnfecteerd door de beet van *I. ricinus*. Het is al lange tijd onduidelijk of borreliose (ziekte ten gevolge van een *Borrelia*-infectie) ook in Europa voorkomt bij honden. Infectie kan relatief eenvoudig worden vastgesteld door middel van agensdetectie of serologie, maar eventuele ziekteverschijnselen zijn hier moeilijk mee in verband te brengen. Zelfs in de humane geneeskunde is het oorzakelijke verband tussen infectie en ziekte nog altijd een diagnostisch probleem. In dit artikel wordt de huidige kennis over *Borrelia*-infecties bij honden samengevat.

De gepresenteerde casus zijn uit de Brabantse Kempen, waar honden die in de bossen worden uitgelaten zonder uitzondering geïnfecteerd raken met *Borrelia* (3).

Experimentele infecties

Experimentele infecties kunnen alleen tot stand komen met behulp van geïnfekteerde teken. Uit Amerikaans onderzoek blijkt dat 75 procent van de op deze wijze geïnfekteerde pups (van een leeftijd van zes weken) na twee tot vijf maanden ziekteverschijnselen ontwikkelden. Symptomen bleven beperkt tot een, twee of drie episoden van enkele dagen koorts en kreupelheid aan één poot (4). Een acute fase lijkt bij de hond dus niet te bestaan en het erythema migrans, zoals dat bij mensen na infectie in de huid kan optreden, wordt niet gezien. Toen de pups volwassen waren, bleek de bacterie nog steeds in de huid te worden teruggevonden, zelfs na een langdurige antibioticakuur (5,6). Daarentegen werden volwassen honden alleen symptomatisch na een continue tekeninfestatie gedurende zeventig dagen of na een dexamethasoninjectie direct na de infectie (7,8). De conclusie is dat *Borrelia*-bacteriën langdurig in de gastheer aanwezig kunnen zijn zonder enig ziekteverschijnsel te veroorzaken en dat volwassen honden na proefinfecties alleen symptomen ontwikkelen na immunologische suppressie, die trouwens ook optreedt bij hevige tekeninfes-

Summary

Diagnostic aspects of Borrelia-infections in dogs

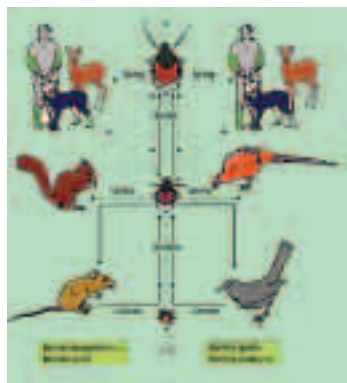
This paper discusses the problem of diagnosing borreliosis (Lyme disease) in dogs. A prospective cohort study in the Kempen district, a known *Borrelia* focus in the Netherlands, showed that dogs with the presumptive symptoms of borreliosis, episodic malaise and lameness, had significantly higher and longer lasting anti-*Borrelia* IgG titers than asymptomatic dogs. A small part of these dogs also had antibodies directed against the IR6 (C6) antigen which indicates persistent active *Borrelia* infection. A few typical case histories are presented. Dogs with episodic malaise and lameness with persistent high IgG titers are suspect of suffering from borreliosis. IR6 antibodies make this diagnosis likely. Initially, such patients should be treated with doxycyclin (10 mg/kg 1dd) for 10 days. If the symptoms recur within a few months, a longer treatment (eg 6 weeks) should be considered. Bernese mountain dogs were strongly over-represented among the borreliosis patients in the cohort study and most high titered samples among those submitted for – diagnostic – serology appear to come from this breed, which suggests that these dogs have difficulties with clearing this tick-borne infection.

Please note that this article is a non-reviewed contribution. All reviewed contributions can be found in the section 'Wetenschap'.

tatie. Let wel, bovenstaande experimentele infecties zijn uitgevoerd met de Amerikaanse stam van *B. burgdorferi* en niet met de Europese soorten.

Infectiestatus van honden in Nederland

Bij het Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum (VMDC) van de Faculteit der Diergeneeskunde, heeft slechts



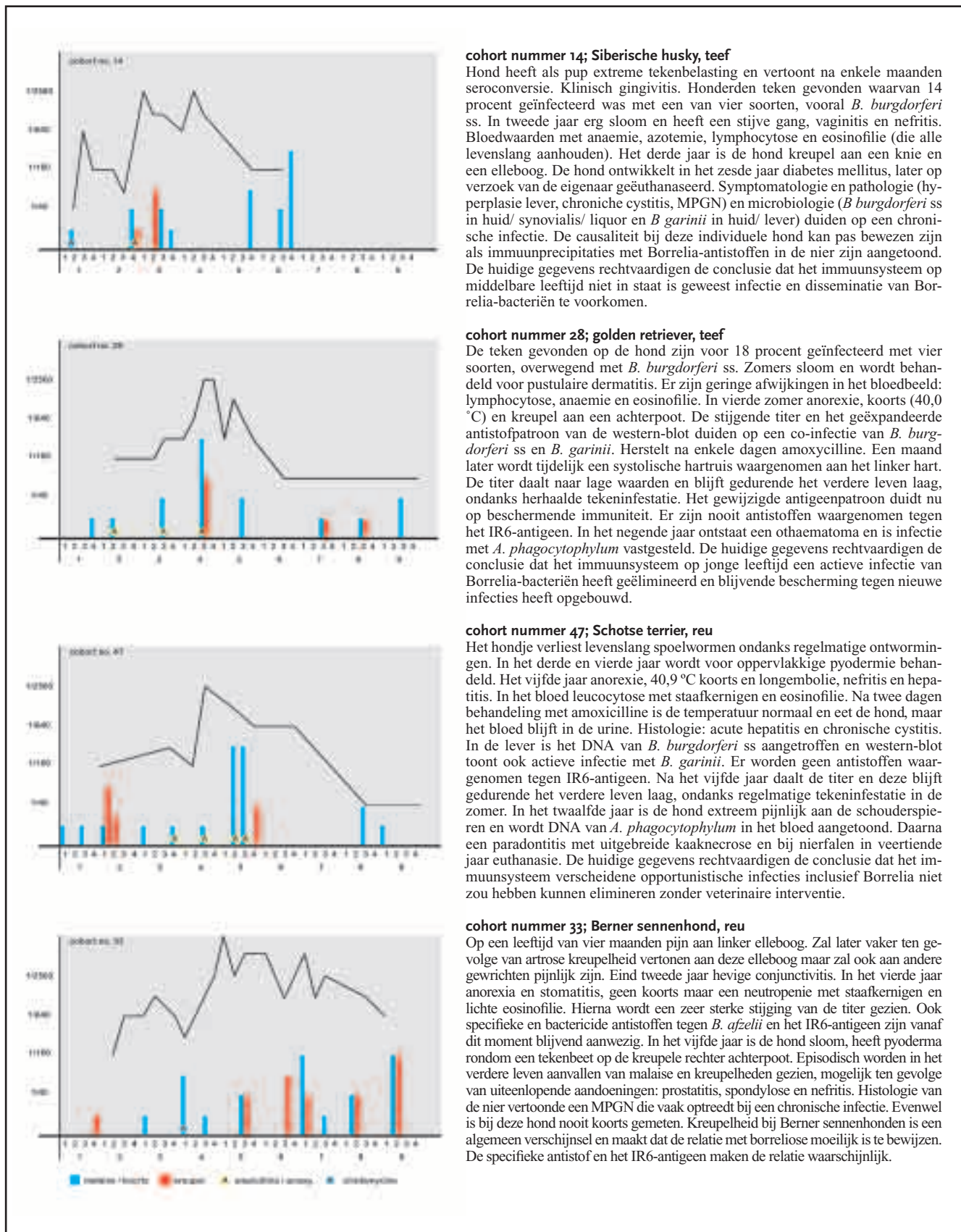
Figuur 1. De transmissiecyclus van vier Europese *Borrelia*-soorten, overgebracht van dier op dier door verschillende stadia van de teek *Ixodes ricinus*. De larve neemt *Borrelia* op uit het bloed van een muis of vogel, vervolgens kan de nimf de infectie aan andere dieren doorgeven en opnieuw een infectie oplopen. De volwassen teek heeft daardoor een hogere infectiegraad dan de nimf

(waarvan op sommige locaties in Nederland er 40 procent geïnfecteerd zijn). *B. burgdorferi* sensu stricto is de enige soort in Noord-Amerika. De verwachting is dat de pathogenese van de ziekte bij Europese honden dan ook complexer zal zijn. In Nederland wordt *B. afzelii* het meest frequent gevonden in de teek op de vegetatie. Maar in weefsels van vermeende borreliosehonden worden voornamelijk *B. burgdorferi* en *B. garinii* gevonden (11).

¹ Dr. K.E. Hovius, dierenarts bioloog, practicus te Veldhoven (info@dierenartsveldhoven.nl).

² Dr. D.J. Houwers, specialist veterinaire microbiologie, Hoofd VMDC, Faculteit der Diergeneeskunde.

Figuur 2. Serologische dynamiek bij vier honden uit het prospectief cohortonderzoek die verdacht zijn van borreliose. Verdenking op grond van de gedefinieerde klinische diagnose malaise/koorts (blauw) gevolgd door kreupelheid (rood), aangegeven met een staafdiagram. De hoogte in vijf klassen (gerelateerd aan koorts, betrokkenheid van organen, afwijkende bloedwaarden et cetera) geeft de ernst van de klacht op dat moment aan. Op de y-as de titer in het serum. Op de x-as de leeftijd tot negen jaar en per kwartaal.



10 procent van de sera afkomstig van borreliose verdachte honden een zodanige IgG-titer tegen *Borrelia* (whole cell ELISA $\geq 1/320$) dat een recente infectie wordt aangetoond. Dit geeft aan dat de klinische verdenking achteraf vaak onterecht geweest is. Bij het Berner sennenras blijkt echter 40 procent een duidelijke titer te hebben.

Prospectief cohortonderzoek

Vanaf het begin van de negentiger jaren hebben wij een prospectief cohortonderzoek gedaan bij pups en jonge honden ($n=45$) en bij oudere honden ($n=40$). Gedurende vijf jaar werden om de drie maanden de gezondheidstoestand en de *Borrelia*-antistoftiter in het serum bepaald (3,9). Het betrof honden die werden uitgelaten in bossen van de Brabantse Kempen en daar jaarlijks tientallen teken opliepen vanwege het indertijd ontbreken van effectieve tekenpreventie. De pups en jonge honden vertoonden allemaal een seroconversie in hun eerste tekenseizoen. De oudere honden hadden zonder uitzondering een anti-*Borrelia*-titer in het tekenseizoen (april tot en met oktober). Klinische verdenking voor borreliose was gebaseerd op het optreden van niet traumatische of degeneratieve kreupelheid met malaise (koorts, sloom, anorexie) onder uitsluiting van andere oorzaken. Deze combinatie van symptomen werd waargenomen bij 24 van de 85 honden, waarvan 15 ook hoge koorts ontwikkelden. Deze 24 honden hadden op 3 na (87,5 procent van de gevallen) een zeer hoge titer anti-*Borrelia* IgG ($\geq 1/2560$). De hoge titer hield meerdere seizoenen aan en viel samen met klinische episoden. Bij de 61 niet verdachte honden, zonder de combinatie van koorts en kreupelheid, werd de hoge titer waargenomen bij slechts 10 honden (16,3 procent) en dan nog tijdelijk (tabel 1). De uitgebreide humorale respons van vermeende patiënten bleek ook uit een grotere diversiteit aan herkende antigenen in de Western-blot (9). De vermeende patiënten reageerden dus beduidend anders op de infectie dan de niet-patiënten. Ook in de VS werd de associatie van hoge titer en klinische symptomen al vroeg in het *Borrelia*-onderzoek geconstateerd (10). Uit onderzoek aan een aantal orgaanweefsels met behulp van PCR bleek dat bij de vermeende patiënten vaker *Borrelia*-DNA aantoonbaar was dan bij niet-patiënten (11).

Variatie in het antistoffenpatroon in de tijd

In bovengenoemd prospectief cohortonderzoek konden enkele honden levenslang gevolgd worden. Dit maakt het mogelijk de ontwikkeling van het ziekteproces (symptomatologie) en de ontwikkeling van antistoffen te volgen (figuur 2). Sommige honden vertoonden sterk fluctuerende titers en hadden dienovereenkomstig intermitterende klachten (zie figuur 2, cohort 14). Honden met slechts één episode van koorts en kreupelheid laten na de kreupelheidsperiode een

dalende titer zien, die afneemt tot zeer lage waarden. Gelijktijdig vindt een verandering plaats in het antistofpatroon in de Western-blot (9). Dit impliceert dat de genoemde honden de bacterie hebben geëlimineerd en een beschermende immuniteit hebben opgebouwd. Ondanks de daarna jaarlijks terugkerende hevige tekeninfestatie blijven deze honden de lage titer houden (zie figuur 2, cohorten 28 en 47). Bij de chronisch zieke honden blijft de titer levenslang hoog. Deze chronisch zieke honden hebben verscheidene keren een antibioticumkuur van vier weken gekregen maar houden niettemin een hoge titer en recidiverende klachten (zie figuur 2, cohort 33). De bacterie ontloopt zowel het immuunsysteem als de antibioticumkuur en persisteert kennelijk, zoals ook is gebleken in het experimenteel onderzoek.

Verder is meer recent duidelijk geworden dat tijdens de persisterende fase het zogenaamde IR6-antigeen in hoge mate tot expressie wordt gebracht op de buitenmembraan van de bacterie (12,13). Dit wordt bevestigd doordat het in sommige gevallen mogelijk blijkt om door middel van een langdurige antibioticumkuur (in de orde van grootte van een tot drie maanden) de antistoffen tegen IR6 te laten verdwijnen en ook de klinische klachten (14). Deze antistoffen zijn te bepalen met een commercieel verkrijgbare test, de zogenaamde C6-test. Een positieve uitslag geeft aan dat de bacterie persistent in de hond aanwezig is (15). Een negatieve uitslag sluit dat echter vooralsnog niet uit. Achteraf blijkt dat van de 85 honden in het prospectief cohortonderzoek slechts 4 honden positief zijn in de C6-test. Zij blijken deel uit te maken van de groep van 24 vermeende borreliosehonden (tabel 1).

Op basis van deze C6-test, gebaseerd op Amerikaanse *Borrelia*-stammen, zou dus bij 4 van de 85 (4,5 procent) ooit geïnfecteerde honden de bacterie persistenten en chronische borreliose tot ontwikkeling komen. Een voorbeeld van een dergelijke casus is cohort 33 in figuur 2, waarbij de C6-test levenslang een positieve uitslag bleef geven. Casusvoorbeelden van de twintig andere vermeende borreliosehonden met hoge IgG-titers en een negatieve uitslag voor de C6-test zijn de andere drie honden in figuur 2. Het lijkt nu duidelijk dat de immunrespons op een *Borrelia*-infectie van meerdere factoren afhankelijk zou kunnen zijn: de tekenbelasting en daarmee de infectiedosis en -frequentie, en de betrokken combinaties van *Borrelia*-soorten (16). Niet in de laatste plaats is naast de verkregen immunosuppressie ook een mogelijk aangeboren gevoeligheid van de individuele hond belangrijk voor de ontwikkeling van borreliose.

Mogelijk rasgebonden predispositie

De vier C6-positieve honden met chronische borreliose waren een bastaardhond, een Tatra- en twee Berner sennenhonden; zij hadden episodisch malaise, koorts en kreupelheid. Lang-

Tabel 1. De serologische parameters van honden met een vermeende klinische *Borrelia*-infectie (symptomatisch: malaise/koorts gevolgd door een episode van kreupelheid) zijn anders dan bij honden met infectie zonder kliniek (asymptomatisch). De resultaten suggereren dat honden met klinische borreliose een grotere diversiteit aan antistoffen produceren in een grotere kwantiteit (titer $\geq 1/2560$) en gedurende langere tijd dan niet klinische honden.

	Whole cell Elisa		IR 6 Elisa	Western blot
	titer 1/320 -1/1280 ^a	titer $\geq 1/2560$	3DX- C6 snap test	aantal bandjes gem. (n=10)
Symptomatisch	24 / 24 100%	21 / 24 88% ^b	4 / 24 17% ^d	16,1 ^c
Asymptomatisch	61 / 61 100%	10 / 61 16% ^c	0 / 61 0%	4,3

^a: titer vanaf 1/320 is positief en duidt op recente infectie

^b: titer van 1/2560 of hoger wordt in de symptomatische groep meerdere kwartalen gemeten.

^c: titer van 1/2560 of hoger wordt in de asymptotische groep slechts in een kwartaal gemeten. (verschil tussen b en c is significant $\chi^2 P < 0.0001$).

^d: de C6 test is alleen positief bij hoge aanhoudende titers bij een klein deel van de symptomatische honden en niet bij asymptotische (verschil is significant $\chi^2 P = 0.001$).

^e: Bepaalde specifieke antigenen gemeten in de Western-blot zijn uitsluitend bij symptomatische honden aanwezig

durige en herhaalde antibioticumkuren gaven geen verlaging van de antistoffen in de C6-test of van de IgG-titer. Buiten het cohortonderzoek worden ook bij andere honden langdurig antistoffen tegen C6 aangetoond samen met een hoge titer. Dat gebeurt vooral bij meerdere Berner sennenhonden, maar ook bij andere rassen en bastaardhonden. Deze honden hebben alle hetzelfde ziektebeeld: herhaalde episoden van malaise met koorts en recidiverende onduidelijke kreupelheden. Bij andere rassen dan het Berner sennenras worden na langdurige antibioticumkuren echter geen recidieven meer waargenomen en zijn de antistoffen tegen C6 verdwenen. De verdwijning van anti-C6 gaat altijd gepaard met een sterke verlaging van de zeer hoge IgG-titer tegen *Borrelia*.

Bij meerdere Berner sennenhonden is de gezondheidsstatus levenslang gevolgd. De honden hadden door de hevige tekeninfestatie in de eerste jaren van het leven overeenkomstig de verwachting een matig hoge titer vanwege de regelmatige herinfecties. Na twee tot vier jaar traden de eerste symptomen op, steeg de IgG-titer en ontwikkelden zich eveneens antistoffen tegen C6. De antistoffen bleven het leven lang met een hoge titer aanwezig, ondanks herhaalde kuren met antibiotica (vergelijkbaar met de casus, cohort 33 in figuur 2). Fatale neoplasieën ontwikkelden zich op een leeftijd van zes tot elf jaar. Bij deze honden ging de chronische *Borrelia*-infectie gepaard met een niet fatale membrano proliferatieve glomerulonefritis (MPGN). Een familiair voorkomende fatale MPGN bij Berner sennenhonden blijkt ook gepaard te gaan met hoge titers tegen *Borrelia* (17). In de VS is een vergelijkbare MPGN beschreven bij retrievers en het wordt bij positieve serologie aangeraden te testen op microalbuminurie en eventueel antibiotica te geven (18,19).

Diagnostiek en therapie

De opname van borreliose in de differentieeldiagnoselijst zou een afgewogen klinische verdenking moeten zijn, gebaseerd op de huidige kennis uit Europa maar ook op die uit Amerika (20,21). Bij jongere honden kan verdenking ontstaan bij onbegrepen malaise (die veelal gepaard gaat met koorts) en onbegrepen kreupelheid gelijktijdig of enkele weken later. Daarbij dient de waarschijnlijkheid van de verdenking in acht genomen te worden. Is er geen andere infectie of neoplasie die de algehele malaise verklaart? Lijkt de kreupelheid inderdaad van infectieuze aard? Komt de hond frequent in aanraking met teken? Een enkele teek is geen reden de verdenking aan te houden, eerder een reden voor verwerping ervan. Bij oudere honden kan een onbegrepen hepatitis en/of nefropathie, na uitsluiting van andere oorzaken, reden zijn voor verdenking. Ook het ras van de patiënt kan de verdenking versterken. De Berner sennenhonden lijken in hoge mate gevoelig (figuur 3), de retrievers waarschijnlijk in mindere mate. Bij staande jachthonden lijkt de ziekte nauwelijks voor te komen.

Bij een afgewogen klinische verdenking is serologisch onderzoek geïndiceerd, indien mogelijk minstens twee keer. Indien de titer hoog is ($> 1/2560$ bij VMDC) dan wordt borreliose aannemelijk. Bij titers van $1/320$, $1/640$ en in mindere mate $1/1280$ hebben de symptomen naar alle waarschijnlijkheid een andere oorzaak en is de infectie met *Borrelia* zeer waarschijnlijk (nog) subklinisch. Lagere titers betekenen dat er op dat moment geen infectie meer is.

Tegenwoordig is de reactie tegen het IR6-antigeen een gemakkelijk te interpreteren serologische volgstep (C6-test). Is de C6-test positief, dan is de bacterie persistent in de hond

Figuur 3. Berner sennenhonden lijken in hoge mate gevoelig te zijn voor *Borrelia*-infecties. Gezamenlijk werden deze vier honden dagelijks in de bossen uitgelaten. Bij drie honden werd jarenlang een zeer hoge IgG-titer en een aanhoudend positieve C6-test waargenomen. Het is opmerkelijk dat bij één hond de IgG-titer zeer laag bleef en ook de C6-test negatief bleef.



aanwezig en is een chronische borreliose zeer waarschijnlijk. Als de diagnose borreliose aannemelijk is, valt een antibioticumkuur te overwegen. De eerste keus is eenmaal daags 10 mg/kg doxycycline oraal gedurende tien dagen direct aan het begin van een symptomatische episode. Als daarna een recidief optreedt kan men eventueel voor een doxycyclinekuur van zes weken worden gekozen. Doxycycline heeft als voordeel dat het ook intracellulair actief is en ook werkzaam is tegen *Anaplasma phagocytophylum*, die een enkele keer kan optreden als faciliterende co-infectie.

Conclusies en advies

Over een *Borrelia*-infectie bij honden bestaat nog veel onduidelijkheid. Niettemin kunnen we de conclusie trekken dat borreliose (ziekte ten gevolge van een *Borrelia*-infectie) ook in Nederland bij de hond kan voorkomen, zij het met een zeer lage prevalentie. Per individueel geval moet een afweging worden gemaakt voor vervolgonderzoek, maar een absoluut zekere diagnose is niet te stellen.

De klinische diagnose borreliose kan worden gesteld door bij honden met malaise (vaak met koorts) gevolgd door kreupelheid andere oorzaken voor deze specifieke symptomen uit te sluiten. Verdere onderbouwing vindt plaats door middel van serologisch onderzoek, waarbij op het VMDC de whole cell ELISA onderscheidend blijkt te zijn. Als de ELISA resulteert in een zeer hoge IgG-titer ($\geq 1/2560$) kan er sprake zijn van borreliose. Een eventuele tweede, versterkende stap in de serologie is de C6-bepaling; een combinatie van een zeer hoge titer en een positieve C6-test duidt op een actieve persistente infectie. Dit leidt tot de minst onzekere diagnose. Therapeutisch blijkt een tiendaagse kuur doxycycline verbetering te geven. Voorlopig is vaccinatie geen optie, aangezien de monovalente vaccinatie zoals die in de Verenigde Staten wordt toegepast, hier naar verwachting niet dezelfde beschermende werking zal geven, vanwege de aanwezigheid van meerdere infecterende *Borrelia*-soorten in Europa (22). Chemische preventie van tekeninfestatie reduceert de infectiekans aanzienlijk en regelmatige controle op teken en het vermijden van tekenrijke gebieden zijn en blijven aanbevelenswaardig.

Noot: als C6-test werd gebruikt: SNAP-3Dx heartworm, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* test, IDEXX.

Dankbetuiging:

Wij zijn dr. E. van Duijkeren, drs. M. Duijvestijn-Meijers, drs. A.M. van Dongen en drs. J.W.R. Hovius erkentelijk voor kritische bijdragen en de staf van het VMDC en Ria Simons voor de verwerking van de sera.

Literatuur

1. De Boer R, Hovius KE, Nohlmans MK and Gray JS. The woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) as a reservoir of tick-transmitted spirochetes (*Borrelia burgdorferi*) in The Netherlands. *Zentralbl Bakteriol.* 1993; 279(3): 404-416.
2. Wielinga PR, Gaasenbeek C, Fonville M, de BA, de VA, Dimmers W et al. Longitudinal analysis of tick densities and *Borrelia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* infections of *Ixodes ricinus* ticks in different habitat areas in The Netherlands. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(12): 7594-7601.
3. Hovius KE, Rijpkema SG, Westers P, van der Zeijst BA, van Asten FJ and Houwers DJ. A serological study of cohorts of young dogs, naturally exposed to *Ixodes ricinus* ticks, indicates seasonal reinfection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Vet Q.* 1999; 21(1): 16-20.
4. Appel MJ, Allan S, Jacobson RH, Lauderdale TL, Chang YF, Shin SJ et al. Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. *J Infect Dis.* 1993; 167(3): 651-664.
5. Straubinger RK, Summers BA, Chang YF and Appel MJ. Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(1): 111-116.
6. Straubinger RK, Straubinger AF, Summers BA and Jacobson RH. Status of *Borrelia burgdorferi* infection after antibiotic treatment and the effects of corticosteroids: An experimental study. *J Infect Dis.* 2000; 181(3): 1069-1081.
7. Evans R, Bosler EM, Orthel F, Robertson L, Schneider E, LeFebvre R et al. Canine Lyme borreliosis I Gross clinical observations of laboratory Beagles following exposure to ticks infected with *Borrelia burgdorferi*. *J Spiroch.tick-b.Dis.* 1995; 2[2]: 28-32.
8. Chang YF, Novosel V, Chang CF, Summers BA, Ma DP, Chiang YW et al. Experimental induction of chronic borreliosis in adult dogs exposed to *Borrelia burgdorferi*-infected ticks and treated with dexamethasone. *Am J Vet Res* 2001 Jul;62(7):1104-12.
9. Hovius JW, Hovius KE, Oei A, Houwers DJ and van Dam AP. Antibodies against specific proteins of and immobilizing activity against three strains of *Borrelia burgdorferi* sensu lato can be found in symptomatic but not in infected asymptomatic dogs. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(7): 2611-2621.
10. Kornblatt AN, Urband PH and Steere AC. Arthritis caused by *Borrelia burgdorferi* in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1985; 186(9): 960-964.
11. Hovius KE, Stark LA, Bleumink-Pluym NM, van dP I, Verbeek-de KN, Rijpkema SG et al. Presence and distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in internal organs and skin of naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs, as detected by polymerase chain reaction. *Vet Q.* 1999; 21(2):54-58.
12. Liang FT, Jacobson RH, Straubinger RK, Grooters A and Philipp MT. Characterization of a *Borrelia burgdorferi* VlsE invariable region useful in canine Lyme disease serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(11): 4160-4166.
13. Liang FT, Bowers LC and Philipp MT. C-terminal invariable domain of VlsE is immunodominant but its antigenicity is scarcely conserved among strains of Lyme disease spirochetes. *Infect Immun.* 2001; 69(5): 3224-3231.
14. Philipp MT, Bowers LC, Fawcett PT, Jacobs MB, Liang FT, Marques AR et al. Antibody response to IR6, a conserved immunodominant region of the VlsE lipoprotein, wanes rapidly after antibiotic treatment of *Borrelia burgdorferi* infection in experimental animals and in humans. *J Infect Dis.* 2001; 184(7): 870-878.
15. Levy S, O'Connor TP, Hanscom JL and Shields P. Utility of an in-office C6 ELISA test kit for determination of infection status of dogs naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. *Vet Ther.* 2002; 3(3): 308-315.
16. Hovius JW, Li X, Ramamoorthi N, van Dam AP, Barthold SW, van der Pol T et al. Coinfection with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia garinii* alters the course of murine Lyme borreliosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007; 49(2): 224-234.
17. Reusch C, Hoerauf A, Lechner J, Kirsch M, Leuterer G, Minkus G et al. A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs. *Vet Rec.* 1994; 134(16): 411-415.
18. Dambach DM, Smith CA, Lewis RM and Van Winkle TJ. Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection: 49 cases (1987-1992). *Vet Pathol.* 1997; 34(2): 85-96.
19. Goldstein RE, Corder AP, Sandler JL, Bellohusen BA and Erb HN. Microalbuminuria and comparison of serologic testing for exposure to *Borrelia burgdorferi* in nonclinical Labrador and Golden Retrievers. *J Vet Diagn Invest.* 2007; 19(3): 294-297.
20. Littman MP, Goldstein RE, Labato MA, Lappin MR and Moore GE. ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. *J Vet Intern Med.* 2006; 20(2): 422-434.
21. SE Shaw and MJ Day. *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat, Borreliosis.* Manson Publishing. 2005. pp 100-109.
22. Topfer KH and Straubinger RK. Characterization of the humoral immune response in dogs after vaccination against the Lyme borreliosis agent A study with five commercial vaccines using two different vaccination schedules. *Vaccine.* 2007; 25(2): 314-326.