

Doença de Lyme: uma doença esquecida

Ana Luísa Martins de Lima

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(mestrado integrado)

Orientador: Doutor António Gonçalves Candeias da Guerra Maio

maio de 2021

Agradecimentos

Um agradecimento ao Doutor António Maio pela sua ajuda, dedicação e constante disponibilidade.

Um agradecimento aos meus amigos pela motivação e épicos momentos que me proporcionaram.

Um agradecimento ao Gonçalo, que incansavelmente me acompanhou ao longo destes 6 anos.

Um agradecimento especial à minha família, pais e irmã, pelo apoio incondicional que sempre me transmitiram, em qualquer circunstância

Resumo

A doença de Lyme é uma das doenças transmissíveis de notificação obrigatória mais comuns em Portugal, sendo o principal agente etiológico a *Bbsl*. Na verdade, é considerada uma doença emergente em Portugal, manifestando-se de forma multissistémica. Ocorre habitualmente em três estágios. No primeiro são visíveis manifestações cutâneas características, nomeadamente o EM. Posteriormente, surge o segundo estágio, após disseminação hematogénea da *Bbsl*, podendo haver atingimento cardíaco (cardite e bloqueio auriculoventricular), reumatológico (artralgias), neurológico (meningoradiculite ou paralisia do nervo facial) e cutâneo, considerando-se o linfocitoma uma manifestação rara que pode persistir durante meses. O terceiro estágio é caracterizado pela ACA, uma afeção cutânea que atinge, principalmente, as extremidades, causando inflamação, diminuição do espessamento da pele e neuropatia. Para além disso, podem ocorrer fenómenos neurológicos (neuroborreliose tardia), articulares (artrite de Lyme), oculares (uveíte) e cardíacos (bloqueios auriculoventriculares de 2º e 3º grau).

O diagnóstico deve basear-se em critérios clínicos e epidemiológicos, suportados por exames complementares de diagnóstico. Habitualmente são utilizados testes diretos e indiretos, com maior enfoque nos testes serológicos.

Frequentemente, o diagnóstico desta espiroquetose é dificultado pela apresentação atípica da doença e presença de manifestações clínicas inespecíficas. Isso pode atrasá-lo, impedindo a instituição de terapêutica adequada e promovendo o aparecimento de complicações. O tratamento consiste habitualmente na administração de antibioterapia com beta-lactâmicos, macrólidos ou tetraciclina. Este costuma ser eficaz e bem tolerado.

Pretendo com esta revisão bibliográfica sistematizar os conhecimentos atuais sobre esta doença.

Palavras-chave

Borreliose, Doença de Lyme, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, Diagnóstico

Abstract

Lyme disease is one of the most common communicable diseases in Portugal, being the main etiologic agent the *Bbsl*. In fact, it is considered an emerging disease in Portugal, manifesting itself in a multisystemic way. It usually occurs in three stages. In the first, characteristic cutaneous manifestations are visible, namely EM. Subsequently, the second stage appears, after hematogenous dissemination of *Bbsl*, with cardiac (carditis and atrioventricular block), rheumatological (arthralgias), neurological (meningoradiculitis or facial nerve palsy) and cutaneous affection, considering the lymphocytoma a rare manifestation that it can persist for months. The third stage is characterized by ACA, a skin condition that mainly affects the extremities, causing inflammation, decreased skin thickening and neuropathy. In addition, neurological (late neuroborreliosis), articular (Lyme arthritis), ocular (uveitis) and cardiac manifestations (2nd and 3rd degree atrioventricular blocks) phenomena can occur.

The diagnosis must be based on clinical and epidemiological criteria, supported by complementary diagnostic tests. Direct and indirect tests are usually used, with a greater focus on serological tests.

Often, the diagnosis of these spirochetes is hampered by the atypical presentation of the disease and the presence of nonspecific clinical manifestations. This can delay it, preventing the institution of adequate therapy and promoting the appearance of complications. Treatment usually consists of administering antibiotics with beta-lactams, macrolides or tetracyclines. This is usually effective and well tolerated.

With this bibliographic review I intend to systematize the current knowledge about this disease.

Keywords

Borreliosis, Lyme disease, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, Diagnosis

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Palavras-chave	v
Abstract	vii
Keywords	vii
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Siglas e Acrónimos	xvii
1. Introdução	1
1.1 Material e métodos	2
2. Epidemiologia	3
2.1 Agente, Vetores, Reservatórios e Ciclo de vida	4
2.2 Fatores de Risco	6
2.3 Patofisiologia	6
3. Manifestações Clínicas	9
3.1 Fase Precoce	10
3.1.1 Infecção Precoce Localizada	10
3.1.2 Infecção Precoce Disseminada	11
3.1.2.1 Artralgias Migratórias	11
3.1.2.2 Cardite de Lyme	12
3.1.2.3 Linfocitoma Borreliano	12
3.1.2.4 Neuroborreliose aguda	13

3.2 Fase Tardia	14
3.2.1 Acrodermatite Crónica Atrófica	14
3.2.2 Artrite Crónica	15
3.2.3 Neuroborreliose tardia	15
3.3 Doença de Lyme Crónica	16
4. Diagnóstico	19
4.1 Métodos Indiretos (Imunológicos/Serológicos)	20
4.2 Métodos Diretos	22
4.2.1 Testes Moleculares – Detecção de ácidos nucleicos numa amostra biológica	22
4.2.2 Testes Antigénicos	23
4.2.3 Testes Microbiológicos – Exame cultural	23
4.3 Diagnóstico nas diferentes manifestações clínicas	23
5. Outros exames laboratoriais	29
6. Exames de Imagem	31
7. Tratamento	33
7.1 Manifestações cutâneas	36
7.2 Infecção Disseminada Extracutânea Precoce	36
7.2.1 Cardite	37
7.2.2 Neuroborreliose	38
7.3 Infecção Disseminada Extracutânea Tardia	40
7.3.1 Artrite de Lyme	40
7.3.2 Neuroborreliose	42
7.4 Doença de Lyme Crónica	42

8. Síndrome da Doença de Lyme Pós-Tratamento	45
9. Prevenção e Profilaxia	47
10. Controlo de Carrças ou Hospedeiros Animais	49
11. Vacinação	51
12. Conclusão	53
13. Bibliografia	55

Lista de Figuras

Figura 1 - Principais estágios de vida do Ixodes e distribuição mundial das espécies	5
Figura 2 - Principais estágios de vida do Ixodes e as suas dimensões	5
Figura 3 - Persistência da <i>Borrelia burgdorferi</i> através do biofilme	8
Figura 4 - Eritema migrans	11
Figura 5 - Linfocitoma borreliano	13
Figura 6 - Acrodermatite crónica atrófica	15
Figura 7 - Detecção de resposta imunológica após uma picada da carraça infetada com <i>Bbsl</i>	21

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Resumo das manifestações clínicas da doença de Lyme	9
Tabela 2 - Análise do líquido sinovial	12
Tabela 3 - Síntese de manifestações de neuroborreliose aguda	13
Tabela 4 - Síntese de manifestações de neuroborreliose tardia	15
Tabela 5 - Síntese dos métodos complementares de diagnóstico utilizados na doença de Lyme	19
Tabela 6 - Estratégia em duas etapas para o diagnóstico da doença de Lyme, usando testes serológicos	20
Tabela 7 - Síntese do diagnóstico na neuroborreliose	25
Tabela 8 - Algoritmo proposto para doentes com o diagnóstico de neuroborreliose tardia	26
Tabela 9 - Testes diagnósticos recomendados em diferentes fases clínicas	27
Tabela 10 - Fármacos usados no tratamento da doença de Lyme e respectivas posologias	34
Tabela 11 - Efeitos adversos dos fármacos utilizados na doença de Lyme	35
Tabela 12 - Tratamento das diferentes manifestações cutâneas	36
Tabela 13 - Tratamento da cardite de Lyme em ambulatório	37
Tabela 14 - Tratamento da cardite severa	38

Tabela 15 - Tratamento da meningite de Lyme, radiculoneurite, neuropatia craniana e paralisia facial	39
Tabela 16 - Tratamento da artrite de Lyme	40
Tabela 17 - Estratégias a adotar consoante a resposta ao tratamento na artrite de Lyme	41

Lista de Siglas e Acrónimos

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ACA	Acrodermatite crónica atrófica
AINES	Anti-inflamatórios não esteróides
<i>Bbsl</i>	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
<i>Bbss</i>	<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DGS	Direção-Geral de Saúde
DLC	Doença de Lyme Crónica
DMARDs	Fármacos antirreumáticos modificadores da doença
ECG	Eletrocardiograma
EIA	Ensaio imunoenzimáticos
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EM	Eritema Migrans
EUA	Estados Unidos da América
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
IDSA	Infectious Diseases Society of America
ILADS	International Lyme and Associated Diseases Society
IL	Interleucina
IV	Intravenosa
LCR	Líquido cefalorraquidiano
<i>I. ricinus</i>	<i>Ixodes ricinus</i>
PET	Tomografia por Emissão de Positrões

PCR	Reação da cadeia em polimerase
PTLDS	Síndrome da doença de Lyme pós-tratamento
RM	Ressonância magnética
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SPECT	Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
VS	Velocidade de Sedimentação
WB	Western Blot

1. Introdução

A doença Lyme é uma doença infecciosa multissistémica causada por espiroquetas do complexo *Bbsl*. Consiste numa zoonose transmitida pela picada de uma carraça do género *Ixodes*, sendo o *I. ricinus* a espécie mais prevalente na Europa. O veado e o rato são os seus principais reservatórios. Recentemente, segundo o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, foram identificadas aves que promovem também esta disseminação, nomeadamente o tordo-zornal *Turdus pilaris* e o melro-preto *Turdus merula*. (1) As carraças *I. ricinus* estão presentes em várias regiões de Portugal, estando predominantemente infetadas por espécies do complexo *Bbsl* nomeadamente a *Borrelia lusitaniae*. (2) As regiões com maior prevalência localizam-se no Norte e Centro do País, onde se concentra a maior parte da população e se encontram temperaturas propícias ao seu desenvolvimento. (3)

Desde 1999 que a doença de Lyme é uma doença de declaração obrigatória em Portugal. No entanto, parece existir uma clara subnotificação de casos, dificultando a análise epidemiológica e a compreensão do seu impacto na saúde pública em território nacional. A falta de conhecimentos por parte dos profissionais de saúde em relação à doença e a semelhança com outros quadros nosológicos leva a dificuldades no diagnóstico e conseqüente redução na notificação dos casos de doença. (2)

A doença de Lyme manifesta-se inicialmente com uma lesão designada por EM, acompanhada com sintomas gripais, febre, mialgias e arrepios. Nas fases seguintes outros órgãos podem ser afetados e causar lesões ao nível articular (artrite de Lyme), neurológico (neuroborreliose), cardíaco ou dermatológico (ACA).

O diagnóstico é feito com base em dados clínicos e epidemiológicos, reforçados por testes serológicos.

Para o tratamento da infeção recomenda-se o uso de antibioterapia, que costuma ser eficaz e bem tolerada.

A vigilância epidemiológica torna-se essencial, permitindo a deteção de focos de infeção, visando o tratamento precoce da doença com vista à redução das principais complicações e melhor controlo da sua transmissão comunitária.

1.1 Material e métodos

Na elaboração desta revisão de literatura acerca da doença de Lyme, realizou-se uma ampla pesquisa bibliográfica recorrendo, principalmente, às bases de dados: *Pubmed*, *UpToDate* e *SciELO*. Numa primeira fase, utilizei as palavras-chave “*Lyme disease*” e “*Borrelia burgdorferi sensu lato*” na pesquisa eletrónica, adquiri um resultado de 1523 artigos, excluindo os documentos duplicados. Ao limitar a procura das palavras-chave supracitadas ao título/resumo, reduzi para 436 artigos.

A pesquisa foi ainda restringida a ensaios clínicos randomizados, revisões simples e sistemáticas, meta-análises, estudos de controlo randomizados, nos idiomas português, espanhol, italiano e inglês, publicadas entre janeiro de 2005 e dezembro de 2020, resultando num total de 55 artigos, que serviram como base para a redação do presente trabalho. Esta pesquisa foi complementada com as referências bibliográficas que constavam nos artigos selecionados. As restantes palavras-chave “*Europe*”, “*Physiology*”, “*Neurolorreliosis*”, “*Lyme arthritis*”, “*Diagnosis*” foram utilizadas na procura de artigos que incluíssem a patofisiologia, epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento.

Por último, foram consultadas páginas *web* de *guidelines* do CDC, de *guidelines* do IDSA, de ILADS, ESCMID, da DGS, do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge e do Instituto de Higiene e Medicina Tropical.

A revisão está escrita cumprindo o acordo ortográfico.

No total, foram utilizados 100 artigos para referenciação nesta dissertação.

2. Epidemiologia

A incidência da doença de Lyme é maior em países com clima temperado. É endêmica na região nordeste dos EUA, na Europa Central e Escandinávia e, também, nalgumas regiões da Ásia, em particular na zona norte do Japão, tendo menor incidência nos países tropicais. (4,5) Nos últimos anos, tem-se assistido ao aumento progressivo da sua incidência e à expansão geográfica na Europa, surgindo cerca de 65 000 casos anualmente. (4) De facto, os países da Europa Central, nomeadamente a Áustria e a Eslovénia, reportam uma incidência superior face aos restantes países europeus e nota-se um gradiente decrescente para oeste e para sul. (6) É importante salientar que a interpretação dos dados deve ser feita de forma cautelosa, visto que a doença de Lyme não é de declaração obrigatória nalguns países, havendo variações quer na definição de caso, quer nos métodos laboratoriais usados para o diagnóstico. (6)

Em Portugal, apesar da escassez de dados epidemiológicos, alguns trabalhos sugerem uma crescente importância desta patologia, em particular nas regiões norte e centro do país. O aumento dos movimentos migratórios e das viagens a áreas endémicas poderão contribuir para o crescimento do número de casos de doença de Lyme em território nacional. Atualmente, Portugal é considerado um país endémico para o vetor *I. ricinus*, pelo que é recomendada a instituição de medidas preventivas em indivíduos expostos a contextos de risco. (7)

Segundo os dados da DGS, Portugal tem vindo a aumentar progressivamente o número de casos notificados (9 em 2014, 15 em 2015 e 20 em 2016). A incidência é superior em idades compreendidas entre os 35 e 64 anos, notando-se um predomínio no sexo masculino. (8)

Entre os casos relatados pelo CDC também é referido uma maior incidência de casos no sexo masculino. Para além disso, apresenta uma distribuição bimodal de casos, atingindo de forma predominante as crianças mais novas (entre os 5-9 anos) e os adultos (entre os 50-54 anos). (9,10)

2.1 Agente, Vetores, Reservatórios e Ciclo de vida

A doença de Lyme é a zoonose transmitida por carraça mais comum da Europa.

Em todo o mundo, existem quatro espécies de carraças pertencentes ao complexo *Ixodes ricinus*, que se alimentam de mais de 300 espécies de animais, incluindo pequenos e grandes mamíferos, aves e répteis. Estes são os principais vetores para a transmissão aos humanos das três principais genoespécies patogénicas *Bbsl*. Os ciclos silváticos são complexos e variam de acordo com a localização geográfica. (11) O nordeste dos EUA e a Europa central são as regiões de transmissão mais ativa da *Bbsl*, onde a prevalência desta bactéria nas carraças pode chegar aos 40-50%.

A doença de Lyme é causada por bactérias do género *Borrelia*, pertencentes à família *Spirochaetaceae*, ordem *Spirochaetales*. A *Borrelia* é uma espiroqueta, móvel (por movimentos de contração e rotação), com flagelos, flexível em forma de espiral, de extremidades afiladas, que se divide por divisão longitudinal.

Estas espiroquetas são microrganismos intracelulares facultativos, sem lipossacáridos na membrana celular e com uma estrutura semelhante à das bactérias gram-negativas. São microaerófilas sendo de difícil crescimento em meios culturais, exigindo meios de cultura específicos. Por serem bactérias muito finas não são observáveis por microscopia tradicional. São observadas em microscopia de fundo escuro, em contraste de fase ou utilizando técnicas de Imunofluorescência.

O complexo *Borrelia burgdorferi* compreende pelo menos 15 genoespécies em todo o mundo, sendo que em Portugal, conhecem-se pelo menos cinco espécies patogénicas, nomeadamente *Bbss*, *B. afzelli*, *B. valaisiana*, *B. garinii* e *B. lusitaniae*. (12) Na Europa, *B. afzelli*, *B. garinii* e *Bbss* causam a maioria das formas tardias de infeção. Duas outras genoespécies patogénicas foram identificadas na Europa: *B. bavariensis*, associada a complicações neurológicas, e *B. spielmanii*. (7)

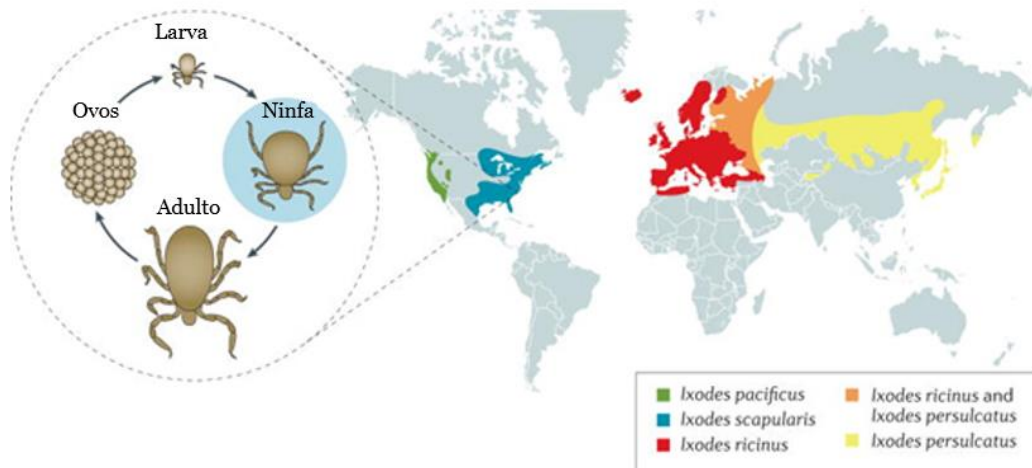


Figura 1 - Principais estágios de vida do Ixodes e distribuição mundial das espécies. Adaptado do artigo (11)



Figura 2 - Principais estágios de vida do Ixodes e as suas dimensões. Adaptado de (13)

O *I. ricinus* é o principal vetor europeu. Os principais estágios de vida da carraça são apresentados nas figuras 1 e 2. As fases de ninfa e adulta do *Ixodes* são onde ocorre habitualmente a transmissão da doença de Lyme. A época de maior transmissão da doença ocorre no final da primavera e início do verão, altura em que ocorre o estágio ninfal do *Ixodes*. (12,14,15) Os *Ixodes* preferem áreas arborizadas havendo um maior risco de exposição nessas localizações. O contato com reservatórios ou hospedeiros acidentais, incluindo animais de estimação, pode resultar na exposição à carraça. Outra via possível de contágio decorre do transporte desta pelas aves migratórias, promovendo uma dispersão a longas distâncias. A expansão do seu habitat tem levado a um aumento da exposição à infecção por parte da população. (16,17)

A transmissão por outros meios alternativos como as transfusões sanguíneas ou contacto com produtos biológicos não foi demonstrada.(10)

2.2 Fatores De Risco

Em áreas endêmicas, o risco de infecção humana por *Bbsl* é determinado pela incidência, taxa de infecção de carrças e pelo comportamento humano. Está comprovada a existência de um maior risco de exposição à carrça em determinadas ocupações, como é o caso dos trabalhadores rurais, guardas-florestais e utilizadores de matas e florestas com fins recreativos. (11,18)

A presença de várias comorbilidades como a dor crónica, patologias do foro psiquiátrico e doenças que aumentem o risco cardiovascular, como a obesidade ou a síndrome metabólica, são fatores preditores de manutenção de sintomas a longo prazo e de menor qualidade de vida. Da mesma forma, atrasos no diagnóstico e no início do tratamento apropriado também mostraram aumentar esse risco. (10)

A disseminação da infecção para o sistema nervoso central e o uso de corticoesteróides pode atrasar a resolução de sintomas sistémicos a longo prazo, nomeadamente na paralisia facial. (19,20)

A persistência de sintomas foi, também, associada a alterações na resposta imune, como a diminuição dos plasmoblastos circulantes, ou a elevação de marcadores inflamatórios como a IL-23 ou o CCL19, no início de doença e/ou no período de convalescença imediata. (21,22,23).

2.3 Patofisiologia

A infecção por *Bbsl* causa lesões diretas nos tecidos do hospedeiro, desencadeando uma resposta imune inata e adaptativa à infecção. (22) A interrupção de vias neuronais centrais pode também ter um impacto significativo nos sintomas. O principal fator para essa desregulação inicial permanece desconhecido, mas pensa-se que a persistência do antígeno após a morte das bactérias leva a uma inflamação contínua.

A *Borrelia* possui um mecanismo sofisticado de regulação génica com base nas vias de HK1 / Rrp1 e Rrp2-RpoN-RpoS. Estas regulam o metabolismo, a variação antigénica, a quimiotaxia e adesão do vetor ao hospedeiro. (1,24)

Dentro da carrça, a *Bbsl* expressa as proteínas da superfície externa Osp A e B, que estimulam os neutrófilos e promovem uma forte resposta inflamatória mediada pelas IL-1B e IL-6 e pelo TNF - α , regulando a adesão ao intestino do vetor. Posteriormente,

ocorre a migração destas espiroquetas para as glândulas salivares da carraça, facilitando assim a transmissão subsequente para o hospedeiro mamífero. Após a absorção do sangue pela carraça a produção de OspA e de OspB diminui, enquanto a OspC aumenta.(25) Para além de OspC, a disseminação da espiroqueta é promovida pela expressão de outras proteínas como ErpP, ErpA, ErpC e enolase. (26,27)

A *Bbsl* pode modular a eficácia da resposta imune do hospedeiro, através da via do complemento, dos neutrófilos e das células dendríticas, alterando a resposta imune adaptativa, bem como os níveis de citocinas e quimiocinas. (28, 29, 30,31)

Para além das mudanças na expressão de Osp, a *Bbsl* tem a capacidade de alterar a sua estrutura física como mecanismo de defesa, em corpos redondos, esferócitos, formas de "cisto" e biofilme. (32) A transição entre diferentes morfologias representa uma estratégia adaptativa para sobreviver a condições ambientais desfavoráveis, nomeadamente variações de pH, falta de nutrientes, ataques do sistema imunológico do hospedeiro ou a presença de agentes antimicrobianos. (33,34)

Este mecanismo de evasão ou modulação imunológica ocorre principalmente em tecidos ricos em colagénio e locais imunologicamente protegidos como o SNC, articulações ou olhos, permitindo a sobrevivência da *Bbsl*. (31,35,36) Em consequência dele ocorre supressão do recrutamento das células imunes, redução da migração das células dendríticas, bem como inativação das células T. Estas alterações imunológicas estão associadas com o desenvolvimento posterior de quadros de artrite associado ao Lyme. (37)

Alguns estudos mostraram que o ADN da *Borrelia* é depositado nas células do SNC, sob a forma de agregados de espiroquetas, mostrando semelhanças estruturais com as placas de amiloide da Doença de Alzheimer. (33,34)

A presença de estruturas semelhantes ao biofilme foi também identificada em biópsias cutâneas de doentes com linfocitoma borrelial. (38) De facto, o biofilme pode contribuir para o sucesso da transmissão e para a ocorrência de manifestações tardias da doença. Porém, a contribuição deste permanece obscura. (39)

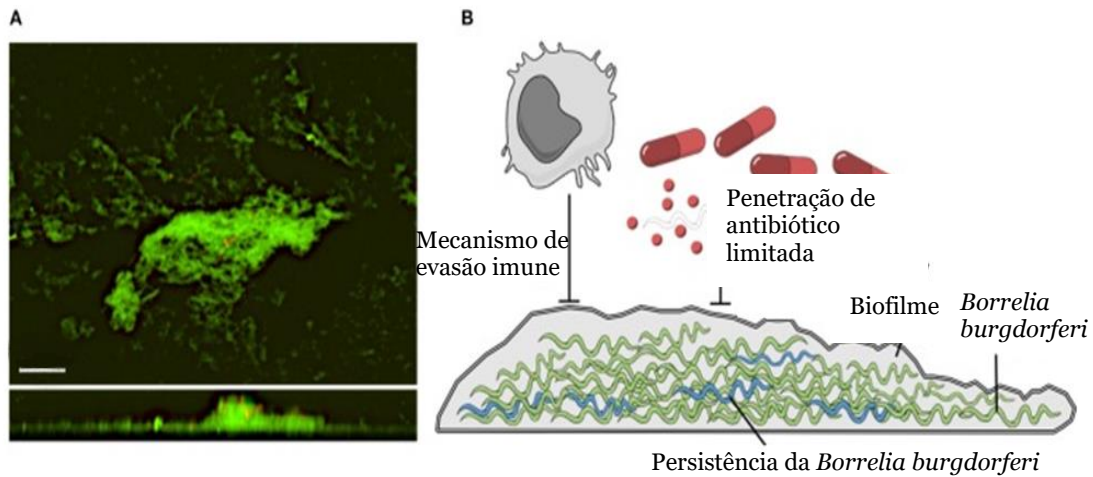


Figura 3 – Persistência da *Borrelia burgdorferi* através do biofilme. Adaptado do artigo (40)

Em fases mais tardias da doença, como na artrite de Lyme, acredita-se que haja uma componente autoimune associada, uma vez que *Bbsl* não é identificada na articulação ou tecido circundante. A desregulação imunológica pode justificar os altos níveis de mediadores inflamatórios associados ao padrão Th17. Estes correlacionam-se com o aparecimento de autoanticorpos, contribuindo para os fenômenos de sinovite associados.

Para além disso, síndromes pós-infecciosas também foram associadas a esta bactéria. Sugere-se que os mecanismos fossem análogos a quadros de fibromialgia e síndrome de fadiga crónica, devido às suas semelhanças clínicas. Assim, a sensibilização central (processo de hiperativação das vias neuronais centrais) promove uma resposta mais intensa a estímulos sensoriais, levando a fenômenos de hiperalgesia e/ou alodinia. Mais estudos serão necessários para clarificar este aspeto. (41,42)

3. Manifestações Clínicas

A doença de Lyme é caracterizada por apresentar três estádios distintos, nomeadamente: as fases precoce localizada, precoce disseminada e tardia. Apesar disso, os doentes podem permanecer assintomáticos indefinidamente ou apresentar clínica heterogénea, dificultando o diagnóstico.

Na tabela seguinte são resumidas as principais manifestações clínicas da doença de Lyme, de acordo com a fase clínica e tempo de doença.

Tabela 1 – Resumo das manifestações clínicas da doença de Lyme

→			
Primeiros dias	Semanas	Meses	Tempo
Infeção Precoce Localizada	Doença Disseminada	Infeção Tardia	Outros
<ul style="list-style-type: none"> - EM (80-90%) - Febre, cefaleias, mal-estar geral, artralgias e mialgias. 	<ul style="list-style-type: none"> - Artralgias migratórias - Cardite de Lyme - Linfocitoma borreliano - Meningite - Paralisia facial periférica 	<ul style="list-style-type: none"> - Acrodermatite atrófica - Encefalopatia - Monoartrite - Neuropatia periférica 	<ul style="list-style-type: none"> - Conjuntivite - Esplenomegalia - Retinite - Uveíte

3.1 Fase Precoce

3.1.1 Infecção precoce localizada

O período de incubação da doença é de três a trinta dias. Em média, cerca de sete a dez dias após a picada da carraça aparecem as primeiras manifestações da doença, sob a forma de lesão cutânea – EM. Esta é a fase que melhor responde ao tratamento dirigido. (11)

Na Europa, o EM é a apresentação clínica mais característica da infecção (80% dos casos). Estas lesões podem ocorrer na infecção por qualquer *Bbsl*. Inicialmente surge uma mácula ou pápula eritematosa que progride centrifugamente ao longo de dias, com bordo em expansão e centro claro, cianótico e/ou descamativo, podendo atingir grandes diâmetros.

Apesar destas lesões serem altamente sugestivas do diagnóstico, apenas são identificadas em 50% dos adultos, sendo mais prevalente nas crianças (90%). (5) Estas expandem-se lentamente, resultado da multiplicação da bactéria, no local da picada. Embora o EM possa atingir qualquer localização cutânea, é mais habitual encontrar lesões na face, região da coluna dorsal, axilas, região inguinal, joelhos e extremidade dos membros inferiores. Por outro lado, nas crianças são observáveis o crânio e o pescoço. (18,43,44)

Em cerca de 37% dos doentes, as manifestações cutâneas são acompanhadas de sintomas gripais, como febre, mal-estar geral, cefaleias, adenopatias regionais, mialgias e artralgias. Os sintomas sistémicos parecem ser mais frequentes no continente americano quando comparado com o europeu. (45)

Embora a história de uma picada da carraça ou a presença do EM permita um diagnóstico oportuno, apenas uma minoria de doentes se recorda de ter sido picado ou identificado o vetor. A incidência de erupções cutâneas parece variar de acordo com a localização geográfica e a espécie de *Borrelia*. (9,46)

Nesta fase, mesmo sem tratamento dirigido, o EM geralmente melhora ou remite em semanas.(11)



Figura 4 – Eritema migrans. Retirado do website do CDC (47)

3.1.2 Infecção precoce disseminada

As formas mais habituais de infecção precoce disseminada são o linfocitoma borreliano e as artralgias migratórias. Também podem ocorrer quadros de neuroborreliose e cardite. Outras manifestações incluem conjuntivite, vasculite retiniana, neuropatia ótica e uveíte.

3.1.2.1 Artralgias Migratórias

As articulações são um dos principais alvos da *B. burgdorferi*. (37) Na Europa, a artrite de Lyme ocorre em fases mais precoces da doença do que nos EUA. O tempo médio entre o EM e o quadro de artrite é de cerca de três meses. (47) Geralmente ocorre atingimento de apenas uma a três articulações (monoartite ou oligoartrite), tendo resolução espontânea algumas semanas ou meses após a sua instalação. A artrite é caracterizada por tumefação e dor articular, com padrão migratório e atingimento preferencial das grandes articulações, como o joelho. Neste último caso pode ocorrer a formação de quistos poplíteos, que quando rompem podem causar quadros de pseudotromboflebite. Já o envolvimento das pequenas articulações das mãos e dos pés é incomum e deve levar à consideração de outros diagnósticos. (48)

Em áreas endêmicas, a artrite de Lyme deve ser considerada no diagnóstico diferencial de doente com artrite, podendo inclusivamente ser mais comum do que a artrite séptica. Os fatores preditivos positivos incluem história de picada pela carraça, envolvimento isolado do joelho e ausência de febre. Por outro lado, fatores como envolvimento coxofemoral, início abrupto e uma amplitude articular diminuída, favorecem o diagnóstico de artrite séptica. Podem coexistir diagnósticos de artrite de Lyme e a artrite séptica, principalmente em crianças com febre, elevação de marcadores inflamatórios

de fase aguda e incapacidade funcional. A presença desses sinais de alerta deve obrigar à exclusão do diagnóstico de artrite séptica e portanto, uma análise do líquido sinovial com exame direto por Gram e cultural (bacteriológico, fúngico e micobacteriológico) torna-se essencial. (48,49,50)

Tabela 2 - Análise do líquido sinovial segundo os Princípios de Medicina Interna de Harrison (51)

Análise do líquido sinovial	Artrite de Lyme	Artrite séptica
Aparência	Opaco/Translúcido	Opaco
Cor	Amarelo opaco	Amarelo esverdeado
Leucócitos (C/mm³)	2000-50000	≥50000
Células polimorfonucleadas	20 a 75 %	≥75 %
Cultura	Negativa	Frequentemente positiva

3.1.2.2 Cardite de Lyme

O envolvimento cardíaco agudo pode também ocorrer durante a fase disseminada precoce. Manifesta-se como um bloqueio auriculoventricular predominantemente de primeiro grau. De forma menos comum, podem ocorrer pericardites e miocardites agudas que, geralmente remitem em semanas, mesmo sem terapia antibiótica. Apesar de tudo, têm sido relatados casos fatais. (11,52)

3.1.2.3 Linfocitoma Borreliano

O Linfocitoma borreliano é uma manifestação cutânea rara que ocorre na fase inicial da infecção. Este quadro ocorre, quase exclusivamente, na Europa. Habitualmente, tem a duração de 14 dias. Clinicamente, é caracterizado por um nódulo ou placa eritematosa, único, de um a cinco centímetros de diâmetro, com predomínio no pavilhão auricular em idade pediátrica e no mamilo ou escroto nos adultos. O linfocitoma está frequentemente associado à infecção pelas *B. afzelli* e *B. garinii*. Esta manifestação pode ser confundida com o linfoma cutâneo, devido ao intenso infiltrado linfocítico. (11,18)



Figura 5 – Linfocitoma borreliano. A lesão é identificada pela seta. Adaptado do artigo.(11)

3.1.2.4 Neuroborreliose aguda

Tabela 3 – Síntese de manifestações de neuroborreliose aguda. Adaptado das guidelines EFNS. (53)

Neuroborreliose aguda		
	Manifestações do SNP	Manifestações do SNC
Sintomas neurológicos < 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> - Meningite linfocítica - Meningorradiculite dolorosa (síndrome de Bannwarth) <p style="text-align: center;">↓</p> <p>A paresia pode afetar os músculos inervados pelos nervos cranianos (especialmente o nervo facial), a parede abdominal ou os membros.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Neurite do plexo e mononeurite múltipla (5–10%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Apraxia - Ataxia cerebelar - Confusão - Flutter ocular - Hemiparesia - Opsoclonia-mioclonia - Sintomas do tipo Parkinson

Durante a infecção disseminada precoce, os doentes podem desenvolver neuroborreliose. A forma de apresentação é variável podendo ir de quadros de meningite até polineuropatia periférica.

De acordo com o explanado na tabela acima, a neuroborreliose aguda pode ser classificada segundo a localização em manifestações do SNP ou do SNC. As formas

habitualmente identificadas são as do SNP como a meningite linfocítica ou a paralisia facial periférica. Os quadros de afetação do SNC são mais raros.

Em adultos, a manifestação mais comum de neuroborreliose é a síndrome de Bannwarth ou meningopolineurite, sendo a *B. garinii* a principal responsável. Esta é caracterizada por radiculoneurite, ocorrendo dor migratória que agrava durante o período noturno. Pode também estar associada a meningite linfocítica asséptica, frequentemente sem cefaleias, podendo ainda, ser acompanhada por neuropatia craniana ou paresia das extremidades ou da parede abdominal.(54) É descrito a presença de *B. afzelii* neste quadro, mas as manifestações clínicas não são tão claras como na *B. garinii*.

Estudos eletrofisiológicos de doentes infetados sugerem o envolvimento principal do nervo axonal. Histologicamente identificam-se lesões axonais com infiltração perivascular de linfócitos e células plasmáticas ao redor dos vasos sanguíneos epineurais.(11)

3.2 Fase Tardia

Nesta fase há probabilidade de atingimento articular (artrite crónica), cutâneo (ACA) e neurológico (neuroborreliose tardia).

3.2.1 Acrodermatite crónica atrófica

A ACA, também conhecida como doença de Herxheimer, é a manifestação tardia mais frequente da doença de Lyme, tendo um período de duração de 21–28 dias. Cursa com lesões cutâneas localizadas maioritariamente nas superfícies extensoras da região distal dos membros. (11) Caracteriza-se por duas fases: uma inicial inflamatória e uma posterior com atrofia cutânea. (6,55) Na fase inicial, aparecem placas eritematosas ou violáceas, indolores, com edema mole. Se não for tratada, as suas dimensões aumentam de forma centrífuga e o componente inflamatório diminui, com progressão para atrofia cutânea.(55) Esse processo ocorre de forma insidiosa ao longo de meses a anos (seis meses até aos oito anos). (56) Simultaneamente, podem desenvolver-se nódulos fibróticos em torno das grandes articulações, em particular no joelho e cotovelo. Cerca de 40–60% dos doentes apresentam sintomas compatíveis com neuropatia periférica nos membros afetados. (18) Esta manifestação é mais comum em mulheres mais velhas, por razões pouco claras, e é rara em crianças. É uma forma de apresentação praticamente exclusiva da *B. afzelii*, podendo ser observada também em infeções por *B.*

burgdorferi ou *B. garinii*. Apenas 20% dos indivíduos com este quadro reportam um episódio prévio de EM, geralmente no mesmo membro afetado. (11,18)



Figura 6 - Acrodermatite crónica atrófica. Retirado do artigo (11)

3.2.2 Artrite crónica

Numa fase tardia podem ocorrer quadros de artrite crónica e erosiva que, se não tratadas, levam à destruição progressiva da cartilagem e do osso. As localizações das lesões são semelhantes às ocorridas na fase precoce disseminada. Na Europa, as manifestações articulares são menos frequentes e os sintomas são mais discretos.

3.2.3 Neuroborreliose tardia

Tabela 4 – Síntese de manifestações de neuroborreliose tardia. Adaptado das guidelines EFNS. (53) ACA – Acrodermatite crónica atrófica.

Neuroborreliose tardia		
Sintomas neurológicos > 6 meses	<ul style="list-style-type: none"> - Mononeuropatia - Polineuropatia (ACA) - Radiculopatia 	<ul style="list-style-type: none"> - Distúrbio da marcha espástico-atáxica - Encefalite de Lyme crónica progressiva ou encefalomielite com síndrome tetraspástica - Micção perturbada - Vasculite cerebral

Define-se que estamos perante uma neuroborreliose tardia quando as manifestações neurológicas se mantêm por um período superior a seis meses.

Várias manifestações tardias neurológicas têm sido associadas à *Bbsl*. A neuroborreliose tardia pode envolver o SNP ou o SNC de maneira semelhante à precoce, mas tem uma evolução mais indolente. Fisiologicamente, há pouca diferença entre ambas as fases. (57) Neste período, os doentes podem apresentar quadros de meningite, paralisia facial e radiculite e, menos frequentemente, meningoencefalites, mielite, vasculite ou neuropatia periférica.

Quando há atingimento do SNP podem ocorrer fenómenos de mononeuropatia, radiculopatia ou polineuropatia. Na Europa, a polineuropatia tardia só foi observada em combinação com a ACA. Por outro lado, nos EUA, foram relatados casos isolados de polineuropatia simétrica distal. (53)

Como manifestações no SNC, podem ainda encontrar-se casos de vasculite cerebral, encefalite de Lyme crónica progressiva ou encefalomielite com síndrome tetrapástica, distúrbio da marcha espástico-atáxica e micção perturbada.

Na Europa tem sido descrito um quadro de encefalomielite crónica, uma síndrome neurológica caracterizada por paraparésia espástica, meningorradiculite e neuropatia craniana, particularmente paralisia do nervo facial.

As complicações oftalmológicas são raras. Quando ocorrem podem ser identificadas neuropatias óticas ou papiledema devido ao aumento da pressão intracraniana. (57,58)

3.3 Doença de Lyme Crónica

Segundo a IDSA, a DLC é definida como uma doença multissistémica com sintomas e/ou sinais que estão continuamente ou intermitentemente presentes por um período mínimo de seis meses, com períodos de latência variáveis.(49) Na prática, o termo DLC tem sido aplicado a uma população altamente heterogénea, incluindo doentes com sintomas prolongados e inexplicáveis que não possuem características objetivas da doença de Lyme. Um estudo mostra que mais da metade dos doentes diagnosticados tinham outros distúrbios específicos, como a artrite reumatóide, osteoporose, esclerose lateral amiotrófica, *miastenia gravis* ou depressão. Independentemente do diagnóstico subjacente, muitos doentes com DLC estão muito sintomáticos e possuem incapacidades funcionais relevantes. A DLC pode ser caracterizada pela manutenção prolongada de sintomas como artralguas, mialgias, dores generalizadas, fadiga,

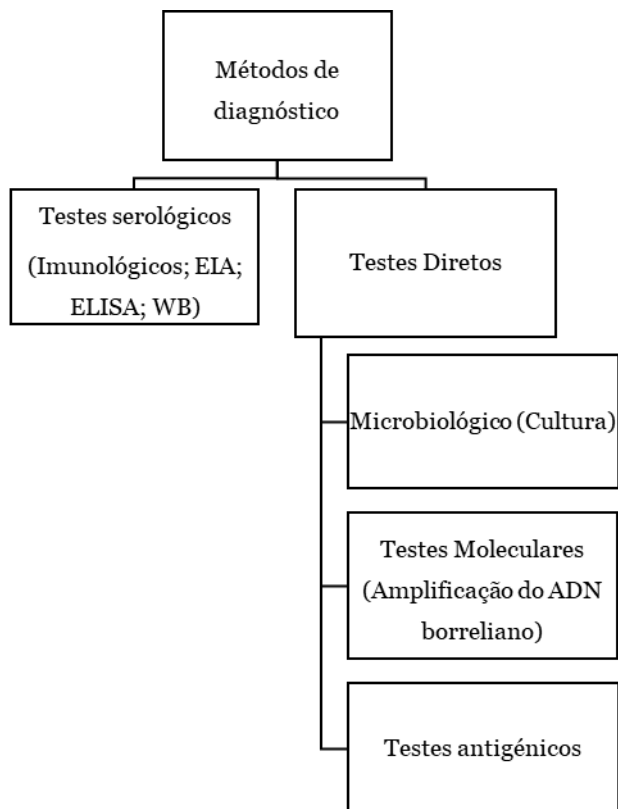
cefaleias, alterações cognitivas, alterações do sono e parestesias. (10) A fadiga é o sintoma grave mais frequentemente relatado, sendo um importante limitador das atividades de vida diária e, por isso, alvo primário da intervenção médica. A sua inespecificidade e a associação a outros diagnósticos, como depressão, síndrome de fadiga crónica ou fibromialgia, dificultam a sua avaliação adequada. (59–62)

Os doentes que apresentam sintomas prolongados e persistentes costumam ter um exame físico normal. O exame neurológico sumário pode, eventualmente, identificar quadros de neuropatia periférica sendo, o achado mais comum as alterações na sensibilidade vibratória. (63)

Tendo em conta o referido, resta saber se estes doentes têm indicação para tratamento dirigido para a doença de Lyme, dado que não há suporte clínico ou laboratorial convincente para o seu diagnóstico. De facto, quando a sintomatologia persiste após o tratamento da doença de Lyme, o uso de antibioterapia prolongada não é útil e acarreta mais riscos que benefícios. O termo DLC, atualmente utilizado, carece de uma definição mais clara, com vista ao seu uso clínico ou investigação científica adequada.

4. Diagnóstico

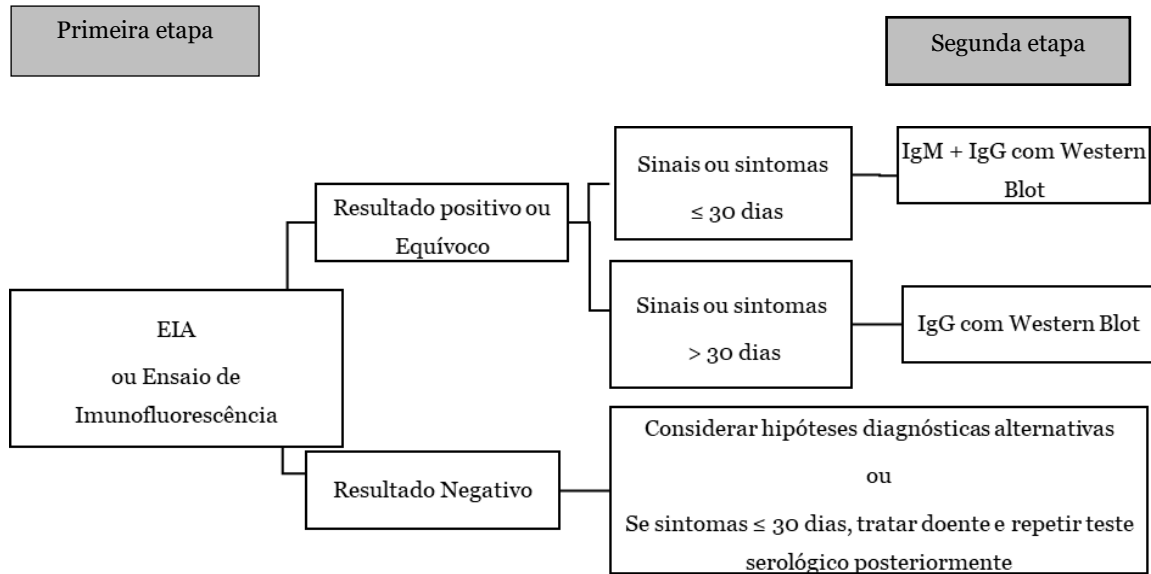
Tabela 5 – Síntese dos métodos complementares de diagnóstico utilizados na doença de Lyme



Os métodos complementares de diagnóstico mais utilizados estão descritos na tabela acima. À disposição do clínico encontram-se métodos de diagnóstico direto (antigénicos, moleculares e microbiológicos) e indiretos (serológicos), que serão explicitados nas próximas secções.

4.1 Métodos Indiretos (Imunológicos/Serológicos)

Tabela 6 – Estratégia em duas etapas para o diagnóstico da doença de Lyme, usando testes serológicos. Adaptado do website do CDC. (47)



Os testes serológicos são métodos de diagnóstico baratos e práticos, prontamente disponíveis, para o diagnóstico das infecções por *Bbsl*. (11) Estes incluem técnicas de imunofluorescência, EIA, ELISA e a técnica de WB. Nesses testes identificam-se geralmente dois tipos de anticorpos: IgM que surge duas a três semanas após início do quadro e a IgG que aparece após oito semanas, como demonstrado na figura 7. Uma IgM persistentemente positiva por períodos superiores a 30 dias deve ser desconsiderada, não refletindo infecção aguda. Caso as serologias iniciais sejam negativas podemos estar na presença de quadros mais precoces da doença, estando recomendada a repetição do estudo serológico cerca de duas a quatro semanas após a avaliação inicial.

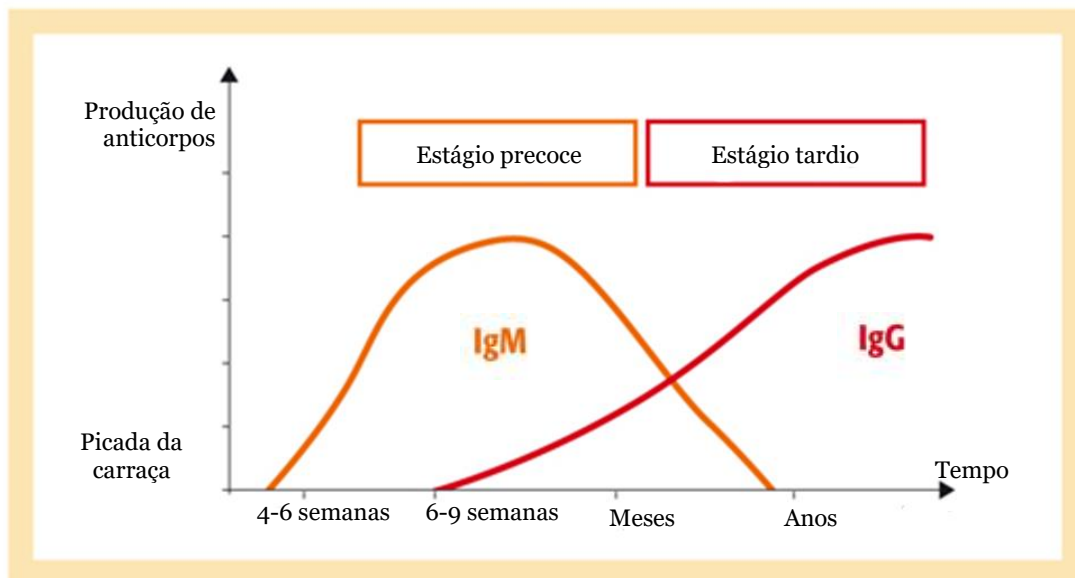


Figura 7 - Detecção de resposta imunológica após uma picada da carraça infetada com *Bbsl*. Adaptado do website (64)

Estes testes são úteis em todas as fases da doença, exceto nas formas de EM e DLC.

Existem várias estratégias possíveis de realização de testes sequenciais, no sentido de aumentar a acuidade diagnóstica. Tanto o CDC, como a ESCMID, recomendam a realização de dois testes. O CDC recomenda o uso de testes de rastreio por Imunofluorescência (EIA e ELISA) e numa segunda fase WB, enquanto a ESCMID propõe o uso de métodos por imunofluorescência em ambas as fases.

O WB é considerado uma técnica com sensibilidade e especificidade altas (com aumento da fiabilidade quatro semanas após a mordedura da carraça) quando comparado com outros testes de rastreio habituais. Este exame permite a deteção de anticorpos *anti-Bbsl* do tipo IgM e/ou IgG.

A seronegatividade da IgG num doente não tratado, com meses a anos de sintomas, exclui o diagnóstico de doença de Lyme, exceto se existir um erro laboratorial ou um raro estado de imunodeficiência humoral.

Os testes serológicos têm as suas limitações. Os doentes podem apresentar resultados falsos-positivos, devido a reações cruzadas com outras patologias, como a mononucleose infecciosa ou as doenças autoimunes. Por outro lado, na fase inicial da infeção ocorrem, frequentemente, resultados falsos-negativos em consequência da

indetetabilidade dos anticorpos. Muitos doentes, também, não desenvolvem uma resposta IgG mensurável na fase de convalescença após antibioterapia. (37,62,65)

Outra limitação é a persistência de imunoglobulinas (IgM e IgG) positivas por anos ou décadas após a infecção ter sido erradicada, mesmo com a resolução da doença. Assim, serologias positivas podem não refletir, necessariamente, uma infecção ativa. (66–68)

A requisição de testes serológicos para outros agentes infecciosos podem ser indicados em certas circunstâncias, nomeadamente na ausência da resposta ao tratamento ou na presença de clínica sugestiva ou fatores de riscos específicos para outra infecção como é o caso da brucelose, febre Q ou bartonelose.

Alguns médicos usam os testes serológicos para determinar a presença/ausência da doença de Lyme persistente, embora haja discordância nessa estratégia. A evidência demonstra que nenhum dos testes serológicos clinicamente disponíveis para a doença de Lyme pode determinar se um doente tem ou não uma infecção crónica por *Bbsl*. (66)

A ausência de seroconversão foi associada a maior risco de falha de tratamento e, conseqüentemente, a persistência de sintomas.

4.2 Métodos Diretos

Para lidar com as limitações dos testes serológicos, vários métodos foram desenvolvidos, com o intuito de uma deteção direta de *Bbsl*. Estes servem como testes complementares aos métodos serológicos. Entre eles estão incluídos os testes de amplificação de ácidos nucleicos, por PCR, métodos culturais e testes antigénicos, entre outros.

4.2.1 Testes moleculares - Deteção de ácidos nucleicos numa amostra biológica.

Os métodos moleculares detetam a presença de ADN de *Borreli*a. Este exame é utilizado como adjuvante no diagnóstico do estágio inicial da infecção. É um teste dispendioso, rápido, sensível e específico, podendo este ser utilizado em amostras de biópsia cutânea. Este é um fator limitante dado que nem sempre estão reunidas as condições para realizar esse procedimento. Vários genes são usados como alvos para a PCR, como por exemplo, o gene 16 S rARN espaço intergénico 5S-23S rARN, hbb, ospA, ospC, recA, fla, uvrA, glpQ, nifS, p66, entre outros. (69)

A detecção de ácidos nucleicos em amostras de LCR tem baixa sensibilidade. Porém torna-se útil nos doentes imunodeprimidos ou na neuroborreliose, em fases precoces, altura onde os testes serológicos ainda são negativos.

Este método não é recomendado para o diagnóstico de doentes com sintomas crónicos ou para seguimento clínico. (53)

4.2.2 Testes antigénicos

Os ensaios de detecção de antígeno têm sido usados para detetar a *Bbsl* no LCR e em amostras de urina. As limitações incluem baixa sensibilidade e baixa especificidade e reprodutibilidade, pelo que não há evidências suficientes para recomendar estes exames como uma ferramenta de diagnóstico de rotina ou no acompanhamento após o tratamento.

4.2.3 Testes microbiológicos – exame cultural

O exame cultural apresenta várias limitações metodológicas, dado que requer longos períodos de incubação (podem exceder as oito semanas) e raramente está disponível, mesmo em grandes centros de referência. Como a detecção microscópica de *Bbsl* pode levar a resultados falso positivos, é sempre necessária confirmação por PCR ou coloração com anticorpos monoclonais específicos. (53)

A utilização dos testes microbiológicos está limitada a situações especiais, como formas de apresentação atípica ou quadros de imunossupressão. (53,112)

4.3 Diagnóstico nas diferentes manifestações clínicas

Nas fases mais precoces da doença, o diagnóstico é realizado através de uma cuidada história clínica, salientando-se a colheita dos dados epidemiológicos disponíveis e a realização de um exame físico pormenorizado. De acordo com as orientações da IDSA, deve considerar-se o diagnóstico de doença de Lyme em doentes com exposição potencial a carrças, em áreas endémicas, com presença de uma ou mais lesões cutâneas compatíveis com EM. (49)(65) Nessa fase não são necessários estudos específicos para se fazer o diagnóstico da doença. De facto, nenhum dos testes serológicos ou de detecção direta disponíveis é suficientemente sensível nesta fase. A maioria dos doentes com uma única lesão cutânea de EM é seronegativa à apresentação inicial (20% serão seropositivos em esquema de testagem em duas etapas). A sensibilidade aumenta para 86% na quarta semana da doença ou em doentes

apresentando múltiplas lesões cutâneas. Caso a apresentação clínica seja atípica, poderá haver indicação para se realizarem estudos adicionais. (6,11,18, 37,56, 62,70)

Nas restantes fases da infecção, a realização de testes laboratoriais é essencial para se alcançar um diagnóstico definitivo.

A realização de uma biópsia cutânea parece ser útil apenas nas primeiras semanas de infecção, quando aparece o EM e nos quadros de ACA.

Na artrite de Lyme é recomendado o uso de testes serológicos (com uma sensibilidade de 95-100%), em alternativa à PCR, hemoculturas (apenas com uma sensibilidade de 7,7%) ou cultura do líquido sinovial. Em algumas situações pode ser vantajoso realizar uma artrocentese com pesquisa da *Borrelia* por PCR, exame que tem mostrado ter uma acuidade diagnóstica superior à realização de estudo cultural. (48)

Na artrite de Lyme tardia, com exceção da PCR do líquido sinovial, os restantes testes, são frequentemente pouco sensíveis ou encontram-se indisponíveis.

Na neuroborreliose, os testes serológicos são os que apresentam maior sensibilidade. Habitualmente, a pesquisa de anticorpos no sangue será positiva mais precocemente face aos mesmos no LCR. No entanto, um teste serológico negativo não exclui o diagnóstico. O estudo citoquímico do LCR está habitualmente alterado, sendo de esperar encontrar pleocitose linfocítica, proteinorráquia e produção intratecal de anticorpos IgM e IgG específicos para *Bbsl*. O LCR pode ser normal em fases muito precoces de doença, nos imunodeprimidos, em casos de neuroborreliose associada à *B. afzelii* e em doentes com polineuropatia associada à ACA. Nessas situações deve realizar-se uma PCR ou exames culturais com vista a comprovar a suspeita diagnóstica.(11,53)

A quimocina CXCL13 foi proposta como biomarcador para a neuroborreliose, dado que valores elevados desta se correlacionam com os níveis de anticorpos para *Bbsl* intratecal em doentes com meningite aguda. No entanto, ainda não foi comprovada a sua utilidade clínica, nem criado um teste padronizado que permita a sua utilização como teste de diagnóstico. (71)

Na tabela seguinte apresentam-se os critérios de diagnóstico da neuroborreliose propostos pela EFNS.

Tabela 7 – Síntese do diagnóstico na neuroborreliose. Adaptado das guidelines da EFNS (53)

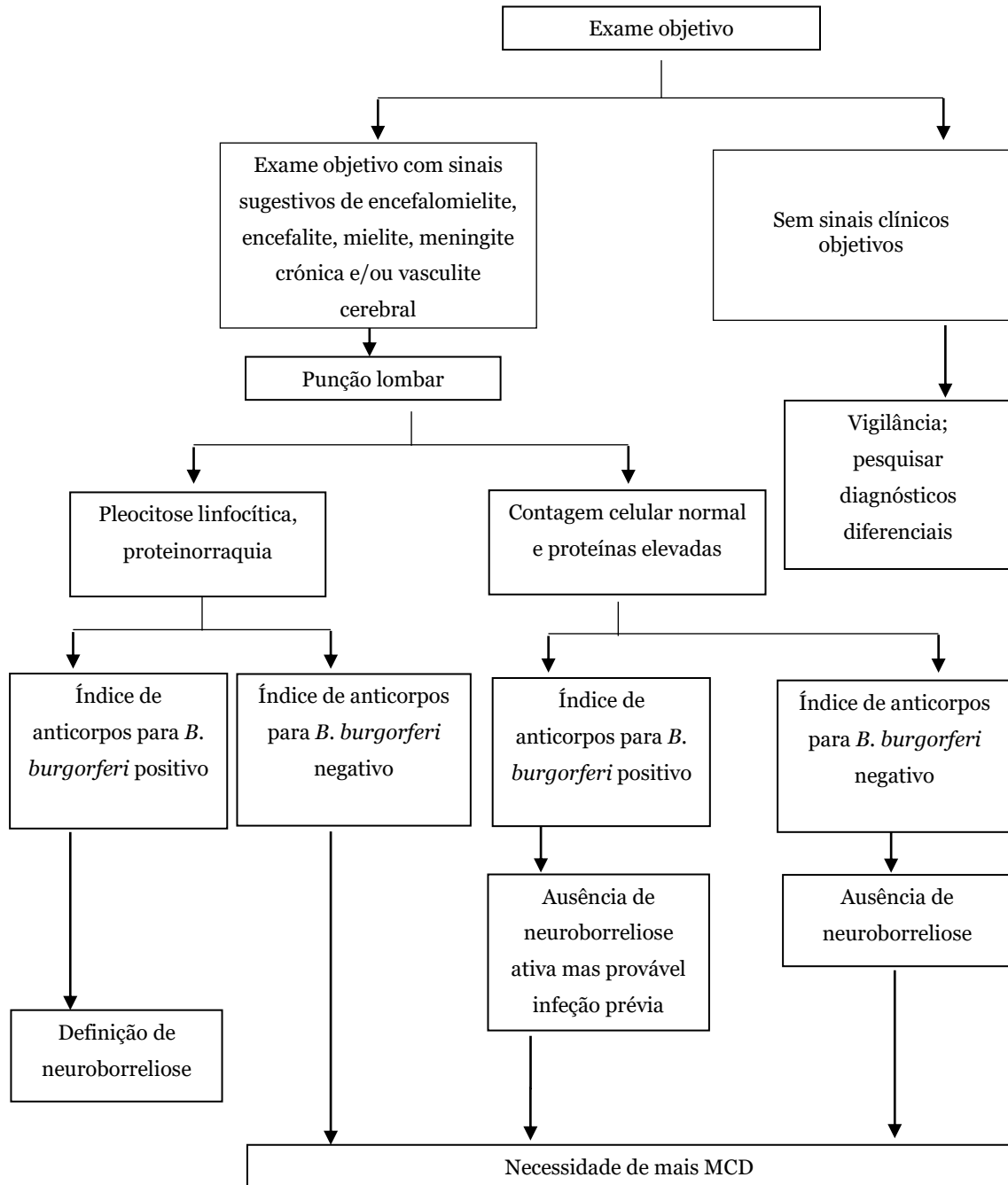
Definição de neuroborreliose ^{a b} Todos os critérios	Sintomas neurológicos sugestivos de neuroborreliose, excluídas outras causas.
	Pleocitose no LCR
	Presença de anticorpos contra <i>Bbsl</i>
Possível neuroborreliose 2 dos critérios prévios	

a - Estes critérios aplicam-se em todas as formas de neuroborreliose exceto na fase tardia com polineuropatia. Neste caso – neuropatia periférica + Acrodermatite crónica atrófica + Anticorpos Bbsl no soro.

b – Em caso de dúvidas, na neuroborreliose precoce pode ser útil a utilização de métodos de deteção direta, nomeadamente a cultura e a deteção de ácidos nucleicos.

De seguida apresenta-se um algoritmo possível para o diagnóstico laboratorial da neuroborreliose.

Tabela 8 - Algoritmo proposto para doentes com o diagnóstico de neuroborreliose tardia. Adaptado de (72)



Por fim, resumem-se na tabela 9 os principais exames complementares de diagnóstico a solicitar consoante a fase de doença.

Tabela 9 – Testes diagnósticos recomendados em diferentes fases clínicas. Adaptado do artigo (73)

Fase da Infecção	Testes recomendados
Fase aguda do Eritema Migrans	Diagnóstico clínico (Habitualmente sem necessidade de testes específicos) e tratamento empírico
Fase aguda do Eritema Migrans (Fora da época habitual, zona não endêmica)	EIA e Western Blot confirmatório; ↓ - Se negativo - repetir; - Se positivo - tratar
Atingimento neurológico, cardíaco, articular	EIA → Considerar testes antigénicos do líquido sinovial ou LCR
Ausência de sinais objetivos	Não recomendado
Sintomas persistentes após tratamento	Não recomendado

5. Outros exames laboratoriais

Vários exames laboratoriais têm vindo a ser desenvolvidos e adaptados para complementarem o diagnóstico clínico de doença de Lyme.

Nos doentes com suspeita clínica deve colher-se um hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína-C reativa, bioquímica geral com função renal e hepática, função tiroideia e urina II. Normalmente há elevação dos marcadores de fase aguda (Proteína C-reativa e Velocidade de hemossedimentação), aumento ligeiro das transaminases e hematúria microscópica ou proteinúria. (10,48)

O eletrocardiograma também pode ser útil, em situações em que se suspeite do atingimento cardiológico pela doença de Lyme.

Outros exames podem ser solicitados consoante as suspeitas clínicas, com o objetivo de exclusão de outros diagnósticos.

6. Exames de Imagem

Através do estudo imagiológico pretende-se descartar outros quadros clínicos que justifiquem as manifestações neurológicas presentes em algumas fases da doença. Nesse contexto, a RM é o exame mais utilizado. Eventualmente, na doença de Lyme poderão ser detetadas lesões inespecíficas da substância branca ou achados compatíveis com fenómenos de neurite, mielite ou vasculite. Contudo, não se evidenciam achados específicos, situação que limita a sua utilidade. (57)

Na neuroborreliose com meningoradiculite, pode ser observado na RM um realce leptomeníngeo difuso e generalizado, que desaparece quatro semanas após o tratamento (74)

Nos casos de atingimento dos pares cranianos, pode encontrar-se um realce difuso dos nervos cranianos na RM. Também a assimetria ou edema do gânglio geniculado, segmentos timpânicos ou mastóides, ajuda a sustentar essa suspeita clínica. Com este exame de imagem podem excluir-se causas compressivas locais, enfartes, disseminação de tumores perineurais, lesões focais, entre outros. Contudo, a imagem não é patognomónica pelo que, quadros nosológicos como a esclerose múltipla, sarcoidose ou a síndrome de Guillain-Barré, podem ter características similares. (75,76) Nos casos de mielite, muitas vezes, detetam-se lesões a nível da medula espinal cervical.

Estudos apontam para o aparecimento de quadros de vasculite na doença de Lyme em cerca de 0,3% dos casos. Nessas situações parece haver um envolvimento preferencial da circulação cerebral posterior. Assim, os exames angiográficos podem ser úteis nestes casos mostrando irregularidades no lúmen do vaso, como oclusão, estreitamento ou dilatação segmentar. Por outro lado, nalguns exames, são identificadas lesões semelhantes a fenómenos isquémicos agudos e subagudos. (11,77,78)

7. Tratamento

O tratamento da doença de Lyme procura a resolução dos sinais e sintomas da doença e consequente prevenção de recidivas e complicações associadas.

A *Bbsl* é sensível a antimicrobianos de várias classes, desde beta-lactâmicos, macrólidos ou tetraciclina. (56)

Os antibióticos mais utilizados habitualmente são a amoxicilina, cefuroxima, ceftriaxone, doxiciclina e azitromicina. A via oral deve ser preconizada na maior parte das situações por ter semelhante eficácia, melhor tolerabilidade e menos custos que a via iv. A escolha do fármaco e via de tratamento deve variar consoante a idade, presença de manifestações extracutâneas, alergias, efeitos adversos esperados e a suspeita de coinfeções com outros agentes como a *Anaplasma* ou *Ehrlichia*.

Os macrólidos parecem ter menos eficácia que as restantes opções terapêuticas estando recomendada a sua utilização em segunda linha.

A doxiciclina está habitualmente contraindicada em grávidas ou em mulheres em fase de amamentação e crianças com idades inferiores a 8 anos. Alguns estudos mais recentes têm apontado que este fármaco poderá ser seguro em crianças desde que usado por curtos períodos (até 14 dias) mas são necessários mais dados para assumir essa recomendação. (11)

Em regra, o tratamento do EM deve ter uma duração média entre 7-14 dias, consoante o fármaco prescrito. Por outro lado, as restantes apresentações clínicas deverão ser tratadas habitualmente durante 14-28 dias.

Tabela 10– Fármacos usados no tratamento da doença de Lyme.

Fármaco	Dosagem para adultos	Dosagem para crianças
Via oral		
<i>1^a Linha</i>		
Amoxicilina	500 mg tid	50 mg/ kg tid (máximo 500 mg/dose)
Doxiciclina	100 mg bid ou 200 mg id	4,4 mg/ kg bid (máximo 200 mg/dia)
Cefuroxima	500 mg bid	30 mg/ kg bid (máximo 500 mg/dose)
<i>Alternativa</i>		
Azitromicina	500 mg id	10 mg/ kg id (máximo 500 mg/dose)
Via Intravenosa		
<i>1^a Linha</i>		
Ceftriaxona	2000 mg id	50-75 mg/ kg id (máximo 2000 mg/dose)
<i>Alternativa</i>		
Cefuroxima	2000 mg tid	150-200 mg/ kg bid ou tid (máximo 6000 mg/dose)
Penicilina G	18-24 MU divididas em cada 4 horas	200000-400000 U/kg divididas em cada 4 horas (máximo 18-24 MU/dia)

MU – Milhões de unidades

Tabela 11 – Efeitos adversos dos fármacos utilizados na doença de Lyme. Adaptado do website (79)

Amoxicilina, amoxicilina / ácido clavulânico, penicilina G	- Náuseas, vômitos, diarreia e colite pseudomembranosa	Pode ocorrer erupção cutânea, incluindo síndrome de Stevens-Johnson (SJS) e necrólise epidérmica tóxica (NET).
Cefuroxima axetil	- Náuseas, vômitos e diarreia	- Colite pseudomembranosa, SJS, NET e dores abdominais.
Ceftriaxona	- Dor e sensibilidade no local da injeção; - Erupção cutânea e diarreia	- Colite pseudomembranosa, SJS e NET.
Doxiciclina	- Disfagia, anorexia, diarreia, vômitos e colite pseudomembranosa - Fotossensibilidade, erupção cutânea e hiperpigmentação cutânea	- Diarreia, vômitos e colite pseudomembranosa.
Macrolídeos (azitromicina, claritromicina, eritromicina)	- Náuseas, vômitos, diarreia e erupção cutânea.	- SJS, NET, perda auditiva, colite pseudomembranosa e arritmias secundárias ao prolongamento do QT.

Na tabela 11 são descritos sucintamente os principais efeitos adversos associados aos fármacos utilizados no tratamento da doença de Lyme.

Alguns fármacos como as cefalosporinas de primeira geração, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, pirazinamida, vancomicina, tigeciclina, metronidazol, tinidazol, rifampicina, hidroxicloroquina ou fluconazol não estão recomendados por comprovada falta ou ausência de resposta.

Salienta-se que alguns antibióticos como a doxiciclina podem ser úteis em coinfeções como a anaplasmoze, entre outras.

7.1 Manifestações cutâneas

Os tratamentos preconizados para este estágio são apresentados na tabela seguinte, que reúne as recomendações principais da IDSA.

Tabela 12– Tratamento das diferentes manifestações cutâneas, segundo as guidelines da IDSA. (49)

Manifestação	Via	Fármaco	Duração (Dias)
Acrodermatite crónica atrófica	Oral	Doxiciclina, Amoxicilina ou Cefuroxima axetil	21 a 28 dias
Eritema Migrans	Oral	Doxiciclina	10
		Amoxicilina ou Cefuroxima axetil	14
		Alternativa: Azitromicina	7 (entre 5 a 10)
Linfocitoma Borreliano	Oral	Doxiciclina, Amoxicilina ou Cefuroxima axetil	14

Geralmente o EM cura espontaneamente, num período de semanas a meses, sem necessidade de antibioterapia. Contudo, o tratamento encurta a duração dos sintomas e evita manifestações adicionais da doença. (80)

Nos quadros de ACA e no linfocitoma borreliano, a IDSA recomenda tempos de tratamento mais prolongados. Apesar do tratamento antibiótico, na ACA são relatadas apenas melhorias frustes da atrofia cutânea, bem como da neuropatia periférica. No entanto, o tratamento parece interromper a progressão da lesão. (11,62)

7.2 Infecção Disseminada Extracutânea Precoce

Dependendo da gravidade da doença, os doentes com envolvimento neurológico ou cardíaco da doença de Lyme podem ser tratados com os mesmos antibióticos orais usados para o tratamento do EM. No entanto, em algumas situações de maior gravidade, há necessidade de instituição de terapêutica parenteral, usando fármacos como a penicilina ou as cefalosporinas. (11)

7.2.1 Cardite

Na cardite de Lyme estão recomendados vários esquemas antibióticos que estão citados nas tabelas seguintes, consoante o grau de gravidade, disponibilidade para tratamento ambulatorial e idade dos doentes.

Nos casos em que os doentes estejam muito sintomáticos ou apresentem bloqueios auriculoventriculares de primeiro grau com prolongamento acentuado do intervalo PR, ou de segundo ou terceiro graus, está recomendada a instituição de terapêutica endovenosa inicial e vigilância clínica adequada. Geralmente o bloqueio auriculoventricular desaparece, alguns dias após o início da antibioterapia.

A colocação de pacemaker temporário pode ser uma opção nalguns doentes, sendo rara a necessidade de colocar um permanente. (48,56)

Tabela 13 – Tratamento da Cardite de Lyme em ambulatório; 1 – guidelines da IDSA; 2 - guidelines da CDC

Cardite de Lyme tratados em ambulatório		
Idade	Fármaco	Duração
Adultos	Doxiciclina 1, 2	14-21
	Amoxicilina 1, 2	14-21
	Cefuroxima 1,2	14-21
	Azitromicina 1	14-21
Crianças	Doxiciclina 2	14-21
	Amoxicilina 2	14-21
	Cefuroxime 2	14-21

Tabela 14 – Tratamento da cardite severa segundo as guidelines da IDSA – 1 e CDC -2

Cardite Severa (sintomático; Bloqueio auriculoventricular de 1º grau com intervalo PR ≥300 milissegundos; Bloqueio auriculoventricular de 2º ou 3º grau		
- Recomenda-se o internamento hospitalar com monitoração contínua de ECG. ¹		
- Inicia-se ceftriaxona IV até melhoria clínica, alterando-se posteriormente para um esquema oral. ^{1 2}		
Idade	Fármaco	Duração (Dias)
Adultos 2	Ceftriaxone	14-21
Crianças 2	Ceftriaxone	14-21

7.2.2 Neuroborreliose

Na tabela 15 são descritos os tratamentos recomendados nos quadros de neuroborreliose (48)

Segundo as recomendações da IDSA, no tratamento da neuroborreliose, a utilização de doxiciclina por via oral é tão eficaz como a utilização de outros fármacos iv como a ceftriaxona. Nesse sentido, é seguro utilizar esquemas orais nestes doentes. (11,48)

Nos doentes com paralisia facial secundária à doença de Lyme não está recomendada, por regra, a instituição de corticoterapia. A antibioterapia evita sequelas clínicas futuras, sendo eficaz no tratamento destes quadros. Excecionalmente, se não houver evidência clínica ou serológica de doença de Lyme, a corticoterapia pode ser introduzida de acordo com as recomendações habituais em relação à paralisia facial.

Tabela 15 – Tratamento da paralisia facial, Meningite de Lyme, radiculoneurite, neuropatia craniana e paralisia facial, segundo as orientações do CDC.

Tratamento da Meningite de Lyme, radiculoneurite e neuropatia craniana		
Idade	Fármaco	Duração (Dias)
Adultos ²	Doxiciclina	14-21
	Ceftriaxone*	14-21
Crianças	Doxiciclina	14-21
	Ceftriaxone*	14-21
Tratamento da paralisia facial		
Idade	Fármaco	Duração (Dias)
Adultos¹	Doxiciclina	14-21
Crianças	Doxiciclina	14-21

*Pode-se substituir por terapia oral quando o doente está estabilizado ou tem alta hospitalar.

1- Segundo as guidelines da IDSA para além da doxiciclina oral, também pode ser utilizado. Também pode ser utilizada a ceftriaxona intravenosa, cefotaxima, penicilina G ou doxiciclina oral.

2- Segundo as guidelines da IDSA em casos de meningite; neuropatia craniana e radiculoneuropatia, prefere-se o uso de antibióticos intravenosos em vez de orais.

7.3 Infecção Disseminada Extracutânea Tardia

7.3.1 Artrite de Lyme

Nos quadros de artrite de Lyme está recomendada a instituição de antibioterapia com os esquemas apresentados na tabela seguinte, durante um período de 28 dias.

Tabela 16- Tratamento da artrite de Lyme, segundo guidelines da CDC

Artrite de Lyme		
Idade	Fármaco	Duração (Dias)
Adultos	Doxiciclina	28
	Amoxicilina	28
	Cefuroxime	28
Crianças ≥ 8 anos	Doxiciclina	28
	Amoxicilina	28
	Cefuroxime	28
Crianças < 8 anos	Amoxicilina	28
	Cefuroxime	28

Após o primeiro curso de antibioterapia, e na ausência de uma resposta adequada, deve ponderar-se um novo ajuste terapêutico depois de uma avaliação cuidada do doente.

Tabela 17- Estratégias a adotar consoante a resposta ao tratamento na artrite de Lyme 1 - Guidelines da IDSA; 2- Guidelines do CDC

Melhoria clínica mas com persistência sintomática	Realização de segundo esquema de tratamento ou vigilância clínica de sintomas. ²	
Falência terapêutica ou resposta apenas parcial	O prolongamento da antibioterapia até 1 mês (segundo curso) de ceftriaxona IV, 2g iv, 1 por dia. ¹	Alternativa AINES
Na artrite refratária a antibioterapia oral / IV	<ul style="list-style-type: none"> - Agentes biológicos - Corticóides intra-articulares; - DMARDs sendo que estes podem ser descontinuados após 6–12 meses de tratamento; - Sinovectomia artroscópica. ¹ 	

Em caso de falência terapêutica ou resposta apenas parcial deve-se excluir outras causas de tumefação articular e avaliar a adesão à terapêutica. Uma reavaliação da lesão articular é, também, essencial. (48)

Tratamentos que excedam as 8 semanas não parecem trazer benefícios adicionais em doentes com artrite persistente, caso já tenham feito um ciclo de antibioterapia por via iv. O prolongamento da antibioterapia até 1 mês pode ser uma alternativa quando os doentes apresentam inflamação sinovial. (48,56,81,82)

A utilização de penicilina benzatínica não está recomendado pela ineficácia da resolução total dos sintomas articulares. (11)

Apesar do tratamento adequado e realização de vários esquemas terapêuticos, em cerca de 25% dos doentes com artrite os sintomas inflamatórios persistem. (83)

7.3.2 Neuroborreliose

O tratamento da neuroborreliose tardia é sobreponível ao da fase precoce, estando descrito na tabela 15.

Nos doentes com neuroborreliose tardia, a recuperação pode ser parcial, podendo permanecer sintomas, como a paralisia facial e parestesia das extremidades. Foram relatados casos de desenvolvimento de doenças autoimunes, por exemplo, a polineuropatia desmielinizante idiopática crónica e a vasculite.

Nos casos de encefalopatia de Lyme tardia, mais de metade dos doentes apresenta melhoria clínica após tratamento. O uso de antibiótico é geralmente eficaz na resolução de sintomas como vertigens, tonturas e perdas auditivas. Se presente, a perda de equilíbrio pode persistir mas, responde bem à reabilitação vestibular.

7.4 Doença de Lyme Crónica

Na DLC a estratégia terapêutica foca-se em terapias farmacológicas e não farmacológicas, no sentido de tentar controlar os sintomas presentes e restaurar a função. Assim, o uso de fármacos como a pregabalina e a duloxetina podem ajudar a melhorar os sintomas presentes. Antidepressivos tricíclicos, como a nortriptilina, são, frequentemente usados para o controlo da dor e do sono, e os inibidores seletivos da recaptção da serotonina podem ser indicados para o tratamento da depressão ou ansiedade secundárias. Outros medicamentos para a fadiga, como o modafinil, são uma opção mas nenhuma destas intervenções está suportada por ensaios clínicos. A imunoglobulina IV tem sido útil para casos de polineuropatia autoimune secundária à doença de Lyme, e a gabapentina demonstrou eficácia para reduzir a dor neuropática. (84,85,86)

Intervenções não farmacológicas, como a terapia cognitivo-comportamental, consideram-se alternativas para o alívio sintomático e controlo do stress. (86) A utilização de programas estruturados e supervisionados de exercícios de resistência foram utilizados com sucesso em alguns doentes com sintomas persistentes, melhorando a perceção da saúde individual. (88)

O uso de terapias alternativas complementares, como óleos essenciais, acupuntura ou massagem, pode ser promissor, mas não estão suportados pelos estudos existentes, necessitando de investigações adicionais. (89)

Nos doentes com clínica persistente parece haver vantagem no uso de medicação com ceftriaxone iv, dado que parece reduzir a fadiga grave e a dor e promover uma melhoria funcional subsequente. Isso é particularmente útil em doentes com grandes limitações nas atividades de vida diária. (90,91)

8. Síndrome Da Doença De Lyme Pós-Tratamento

A PTLDS tem sido utilizada para descrever doentes que apesar do tratamento dirigido para a doença de Lyme permanecem sintomáticos de forma contínua, com limitação funcional, que se mantém durante pelo menos 6 meses após o tratamento. (11,32,63,92) No entanto, ainda não existe consenso na utilização deste conceito, na medida em que implica a total eliminação do microrganismo, não sendo possível, com os testes atuais, comprovar essa erradicação. Para além disso, não existem biomarcadores específicos que permitam identificar a presença deste quadro em específico. (94)

Na PTLDS, os doentes apresentam-se habitualmente com queixas álgicas e/ou rigidez da nuca. Frequentemente apresentam artralguas e, em menor número, manifestam alterações compatíveis com artrite, com inflamação e tumefação articular associadas. A artrite de Lyme grave e prolongada pode resultar em sinovite proliferativa e artrite degenerativa prematura, principalmente se associada à rotura de tendão ou atrofia acentuada do quadríceps. (10,62,93)

Os doentes também podem apresentar queixas neurocognitivas, incluindo alterações comportamentais, da memória e linguagem. Por vezes, é possível encontrar alterações neurológicas residuais como sequelas de lesão de pares cranianos ou radiculopatias. Raramente pode ser identificada uma diminuição da força muscular e hiperreflexia. (99,100)

Os sintomas descritos podem persistir por anos trazendo importante morbidade para estes doentes. (94)

Não é benéfico o uso de terapia antibiótica oral ou intravenosa em doentes com PTLDS. (91)

9. Prevenção e Profilaxia

Dada a principal via de contágio, o melhor método de prevenção da doença consiste em evitar a mordedura da carrapa. Medidas, como evitar áreas de maior prevalência do vetor, usar repelentes na pele ou roupa e calçado protetor ou vestuário de cores claras que cubram toda a superfície corporal, podem ser extremamente eficazes.(100) A vigilância da superfície corporal, aquando da ida para zonas de risco, pode também ser útil, dado que a rápida remoção da carrapa evita a transmissão da espiroqueta. Para que ocorra a transmissão, esta deve alimentar-se por um período mínimo de 24 horas. (44,56,70,96)

Como método adicional de prevenção de picadas de carrapa está recomendada a utilização de repelentes de insetos com substâncias como a N-dietil-meta-toluamida (DEET), picaridina, etil-3- (Nn-butil-N-acetil) aminopropionato (IR3535), óleo de eucalipto limão (OLE), p-metano-3,8-diol (PMD) ou 2-undecanona ou permetrina. (48)

Para a remoção de carrapas no corpo, são utilizados meios mecânicos, como uma pinça de ponta fina limpa, não sendo útil a utilização de produtos químicos, derivados de petróleo ou a queima direta do vetor.

Nalguns países é recomendada a instituição de antibioterapia profilática até 72 horas após a remoção da carrapa, caso o doente apresente um alto risco para a aquisição da infeção. Entende-se como alto risco quando estamos na presença de um vetor *Ixodes*, se a picada ocorreu em área endémica e se a carrapa se manteve no corpo por período ≥ 36 horas. Nesses casos deve administrar-se uma dose única de doxiciclina por via oral (200 mg para adultos e 4,4 mg / kg, até uma dose máxima de 200 mg, para crianças).

Na Europa e mais concretamente em Portugal, não é habitual instituir terapêutica profilática. Nos casos de picada por carrapa promove-se uma monitorização clínica cuidadosa, por um período mínimo de 30 dias, com vista à identificação precoce do aparecimento de lesões compatíveis com EM. Não se recomenda a realização de estudos serológicos por regra, dada a sua baixa especificidade neste contexto. (18,56)

10. Controle De Carrças Ou Hospedeiros Animais

Têm sido estudadas intervenções com vista à redução ou prevenção da infecção em reservatórios da doença, nomeadamente nos roedores. As estratégias mais usadas incluem alimentos contendo hclato de doxiciclina e fipronil, para além da vacinação dos roedores para a infecção por *Borrelia*, entre outros. Contudo, os resultados ainda não são consistentes e o sucesso dessas medidas ainda está por provar. (97)

Outra alternativa proposta foi o desenvolvimento de dispositivos, que contêm acaricidas, podendo ser aplicadas em mamíferos, como os cervos, em época de risco de transmissão da doença. Embora os estudos apontem para eventual sucesso desta estratégia, a sua aplicação, na prática, não é fácil dados os custos, questões regulatórias, preocupações sobre o uso de pesticidas e riscos para os animais em causa. (98,99)

11. Vacinação

No passado, houve vacinas disponíveis para a doença de Lyme apenas para utilização em animais. Nos EUA foi comercializada, entre 1998-2002, uma vacina recombinante baseada no OspA. Esta acabou por ser retirada do mercado. (100)

A investigação farmacêutica nesta área tem sido escassa, não havendo neste momento vacinas disponíveis para comercialização.

Uma estratégia proposta seria a utilização de vacinas à base da OspA em humanos, no sentido de procurar prejudicar a transmissão da doença durante o processo de alimentação da carraça e, conseqüentemente, reduzir o risco de infeção. No entanto, os resultados preliminares dessa linha de investigação têm mostrado apenas sucesso parcial.

Não existem neste momento vacinas comercializadas para vacinação de humanos, no sentido de prevenir a transmissão da doença.

12. Conclusão

O aumento da incidência e a expansão geográfica da doença de Lyme, na Europa, tem obrigado a um maior reconhecimento da mesma e dos seus impactos na qualidade de vida dos doentes. De facto, tem sido considerado um problema de saúde pública crescente, principalmente em zonas endémicas, como é o caso de Portugal.

É uma patologia para a qual se deve dar especial atenção, face à complexidade das manifestações clínicas e do atingimento multissistémico da doença. De facto, esta apresenta-se inicialmente como uma lesão cutânea que pode atingir, em fases mais tardias, estruturas reumatológicas, cardíacas, neurológicas e oftalmológicas, constituindo um desafio diagnóstico. O tratamento precoce é decisivo com vista a obter respostas adequadas e com o menor número de sequelas a longo prazo.

Embora muito progresso tenha sido feito para caracterizar e compreender a doença, muitas questões fundamentais continuam sem resposta adequada. Novos estudos têm surgido no sentido de preencher as lacunas de conhecimento. A procura por novos biomarcadores (como a CXCL13) ou a criação de novos conceitos adequados para as fases de doença mais obscura como a PTLDS e DLC, são, de facto, essenciais.

Em conclusão, considera-se fundamental a investigação nesta área do saber, com vista a uma melhor compreensão das várias componentes da doença, descoberta de exames mais sensíveis e específicos e de tratamentos eficazes que impactem de forma decisiva na qualidade de vida dos doentes. (62)

13. Bibliografia

1. Caimano MJ, Drecktrah D, Kung F, Samuels DS, Casimiro E, Calheiros J, et al. Host dispersal shapes the population structure of a tick-borne bacterial pathogen. *Mol Ecol*. 2020;29(2):69–79.
2. Carvalho I, Nuncio MS. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis at the Portuguese National Institute of Health (1990-2004). *Euro Surveill* [Internet]. 2006;11(10):257–260. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/17130658>.
3. Casimiro E, Calheiros J, Santos FD, Kovats S. National assessment of human health effects of climate change in Portugal: approach and key findings. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2006;114(12):1950–1956. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC1764176>.
4. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc H G, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill* [Internet]. 2011;16(27):529–533. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/21794218>.
5. Bhate C, Schwartz RA. Lyme disease: Part I. Advances and perspectives. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2011;64(4):619–36; quiz 637–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2010.03.046>.
6. Stanek G, Fingerle V, Hunfeld K-P, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, et al. Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2011;17(1):69–79. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03175.x>.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. *Ixodes ricinus* - current known distribution: January 2018 [Internet]. 2018 [cited 2021 Jan 7]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/ixodes-ricinus-current-known-distribution-january-2018>.
8. DGS. *Doenças de Declaração Obrigatória 2013-2016, Volume I - Portugal*. Direção-Geral de Saúde. 2017;I:1–81.

9. Schwartz AM, Hinckley AF, Mead PS, Hook SA, Kugeler KJ. Surveillance for lyme disease - United States, 2008-2015. *MMWR Surveill Summ.* 2017;66(22):2008–15.
10. Rebman AW, Aucott JN. Post-treatment Lyme Disease as a Model for Persistent Symptoms in Lyme Disease. *Front Med.* 2020;7(February):1–16.
11. Steere AC, Strle F, Wormser GP, Hu LT, Branda JA, Hovius WR, et al. Steere_2017_Lyme borreliosis.pdf. 2017;
12. Korenberg EI, Nefedova V V, Romanenko VN, Gorelova NB. The tick *Ixodes pavlovskyi* as a host of spirochetes pathogenic for humans and its possible role in the epizootiology and epidemiology of borrelioses. *Vector Borne Zoonotic Dis* [Internet]. 2010;10(5):453–458. Available from: <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0033>.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Guidance for Clinicians: Recommendations for Patients after a Tick Bite. 2019; Available from: <https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/>.
14. Carpi G, Kitchen A, Kim HL, Ratan A, Drautz-Moses DI, McGraw JJ, et al. Mitogenomes reveal diversity of the European Lyme borreliosis vector *Ixodes ricinus* in Italy. *Mol Phylogenet Evol* [Internet]. 2016;101:194–202. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.05.009>.
15. Shpynov S. *Ixodes persulcatus*, a major vector of Alphaproteobacteria in Russia. *Ticks Tick Borne Dis* [Internet]. 2012;3(5–6):305–307. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.029>.
16. Dubska L, Literak I, Kocianova E, Taragelova V, Sychra O. Differential role of passerine birds in distribution of *Borrelia spirochetes*, based on data from ticks collected from birds during the postbreeding migration period in central Europe. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(3):596–602.
17. Eisen RJ, Eisen L, Beard CB. County-Scale Distribution of *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the Continental United States. *J Med Entomol* [Internet]. 2016 Mar;53(2):349–86. Available from: <https://academic.oup.com/jme/article-lookup/doi/10.1093/jme/tjv237>.
18. Garrido PM, Borges-Costa J. Doença de Lyme: Epidemiologia e Manifestações Clínicas Cutâneas. *J Port Soc Dermatology Venereol.* 2018;76(2):169–76.

19. Jowett N, Gaudin RA, Banks CA, Hadlock TA. Steroid use in Lyme disease-associated facial palsy is associated with worse long-term outcomes. *Laryngoscope*. 2017;127(6):1451–8.
20. Wormser GP, McKenna D, Scavarda C, Karmen C. Outcome of facial palsy from Lyme disease in prospectively followed patients who had received corticosteroids. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2018;91(4):336–338. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.03.016>.
21. Blum LK, Adamska JZ, Martin DS, Rebman AW, Elliott SE, Cao RRL, et al. Robust B cell responses predict rapid resolution of Lyme disease. *Front Immunol*. 2018;9(JUL):1–13.
22. Aucott JN, Soloski MJ, Rebman AW, Crowder LA, Lahey LJ, Wagner CA, et al. CCL19 as a Chemokine Risk Factor for Posttreatment Lyme Disease. *Eur Nucleotide Arch* [Internet]. 2016;23(9):757–66. Available from: <http://www.ebi.ac.uk/ena/data/view/PRJNA329638>.
23. Strle K, Stupica D, Drouin EE, Steere AC, Strle F. Elevated levels of IL-23 in a subset of patients with post-lyme disease symptoms following erythema migrans. *Clin Infect Dis*. 2014;58(3):372–80.
24. Radolf JD, Caimano MJ, Stevenson B, T HL. Of Ticks, mice and Men. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10(2):87–99.
25. Carrasco SE, Troxell B, Yang Y, Brandt SL, Li H, Sandusky GE, et al. Outer surface protein OspC is an antiphagocytic factor that protects *Borrelia burgdorferi* from phagocytosis by macrophages. *Infect Immun*. 2015;83(12):4848–60.
26. Önder Ö, Humphrey PT, McOmber B, Korobova F, Francella N, Greenbaum DC, et al. OspC is potent plasminogen receptor on surface of *borrelia burgdorferi*. *J Biol Chem*. 2012;287(20):16860–8.
27. Nogueira SV, Smith AA, Qin JH, Pal U. A surface enolase participates in *Borrelia burgdorferi*-plasminogen interaction and contributes to pathogen survival within feeding ticks. *Infect Immun*. 2012;80(1):82–90.

28. Xie J, Zhi H, Garrigues RJ, Keightley A, Garcia BL, Skare JT. Structural determination of the complement inhibitory domain of *Borrelia burgdorferi* BBK32 provides insight into classical pathway complement evasion by Lyme disease spirochetes. *PLoS Pathog.* 2019;15(3):1–29.
29. Tunev SS, Hastey CJ, Hodzic E, Feng S, Barthold SW, Baumgarth N. Lymphadenopathy during Lyme borreliosis is caused by spirochete migration-induced specific B cell activation. *PLoS Pathog.* 2011;7(5):20–4.
30. Elsner RA, Hastey CJ, Baumgarth N. CD4+ T cells promote antibody production but not sustained affinity maturation during *Borrelia burgdorferi* infection. *Infect Immun.* 2015;83(1):48–56.
31. Lazarus JJ, Kay MA, McCarter AL, Wooten RM. Viable *Borrelia burgdorferi* enhances interleukin-10 production and suppresses activation of murine macrophages. *Infect Immun.* 2008;76(3):1153–62.
32. Shor S, Green C, Szantyr B, Phillips S, Liegner K, Burrascano B, et al. Chronic Lyme disease: An evidence-based definition by the ILADS working group. *Antibiotics.* 2019;8(4):1–20.
33. MacDonald AB. Plaques of Alzheimer's disease originate from cysts of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. *Med Hypotheses* [Internet]. 2006;67(3):592–600. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.02.035>
34. Allen HB. Alzheimer's Disease: Assessing the Role of Spirochetes, Biofilms, the Immune System, and Amyloid- β with Regard to Potential Treatment and Prevention. *J Alzheimer's Dis.* 2016;53(4):1271–6.
35. Livengood JA, Gilmore RD. Invasion of human neuronal and glial cells by an infectious strain of *Borrelia burgdorferi*. *Microbes Infect* [Internet]. 2006;8(14–15):2832–2840. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.08.014>
36. Fallon B. A Reappraisal of the U.S. Clinical Trials of Post-Treatment Lyme Disease Syndrome. *Open Neurol J.* 2012;6(1):79–87.
37. Brouwer MAE, van de Schoor FR, Vrijmoeth HD, Netea MG, Joosten LAB. A joint effort: The interplay between the innate and the adaptive immune system in Lyme arthritis. *Immunol Rev.* 2020;294(1):63–79.

38. Sapi E, Bastian SL, Mpoy CM, Scott S, Rattelle A, Pabbati N, et al. Characterization of Biofilm Formation by *Borrelia burgdorferi* In Vitro. *PLoS One*. 2012;7(10):1–11.
39. Dunham-Ems SM, Caimano MJ, Pal U, Wolgemuth CW, Eggers CH, Balic A, et al. Live imaging reveals a biphasic mode of dissemination of *Borrelia burgdorferi* within ticks. *J Clin Invest*. 2009;119(12):3652–65.
40. Domenico EG, Cavallo I, Bordignon V, D’Agosto G, Pontone M, Trento E, et al. The emerging role of microbial biofilm in lyme neuroborreliosis. *Front Neurol*. 2018;9(December):1–12.
41. Hickie I, Davenport T, Wakefield D, Vollmer-Conna U, Cameron B, Vernon SD, et al. Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: Prospective cohort study. *Br Med J*. 2006;333(7568):575–8.
42. Batheja S, Niels JA, Landa A, Fallon BA. Post-treatment lyme syndrome and central sensitization. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* [Internet]. 2013;25(3):176–186. Available from: <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.12090223>
43. Tilly K, Rosa PA, Stewart PE. Biology of Infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22(2):217–34.
44. Sehgal VN, Khurana A. Lyme disease/borreliosis as a systemic disease. *Clin Dermatol* [Internet]. 2015;33(5):542–550. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2015.05.006>
45. Wormser GP. Clinical practice. Early Lyme disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2006;354(26):2794–2801. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMcp061181>
46. Rauer S, Kastenbauer S, Fingerle V, Hunfeld KP, Huppertz HI, Dersch R. Neuroborreliose. *Dtsch Arztebl Int*. 2018;115(45):751–6.
47. Centers for Disease Control and Prevention. Lyme Disease Rashes and Look-alikes [Internet]. 2020 [cited 2021 Jan 9]. Available from: https://www.cdc.gov/lyme/signs_symptoms/rashes.html
48. Lantos PM, Rumbaugh J, Bockenstedt LK, Falck-Ytter YT, Aguero-Rosenfeld ME, Auwaerter PG, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA), American Academy of Neurology (AAN), and

- American College of Rheumatology (ACR): 2020 Guidelines for the Prevention, Diagnosis and Treatment of Lyme Disease. *Clin Infect Dis*. 2021;72(1):e1–48.
49. Baldwin KD, Brusalis CM, Nduaguba AM, Sankar WN. Predictive Factors for Differentiating Between Septic Arthritis and Lyme Disease of the Knee in Children. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 2016;98(9):721–728. Available from: <https://doi.org/10.2106/JBJS.14.01331>
 50. Deanehan JK, Kimia AA, Tan Tanny SP, Milewski MD, Talusan PG, Smith BG, et al. Distinguishing Lyme from septic knee monoarthritis in Lyme disease-endemic areas. *Pediatrics* [Internet]. 2013;131(3):e695–701. Available from: <https://doi.org/10.1542/peds.2012-2531>
 51. Larry Jameson , Anthony S. Fauci , Dennis L. Kasper , Stephen L. Hauser , Dan L. Longo JL. *MEDICINA INTERNA de HARRISON*. 20.^a ed. Artmed – Mcgraw-Hill, editor. 2020. 4040 p.
 52. Report MW. Three Sudden Cardiac Deaths Associated With Lyme Carditis—United States, November 2012 to July 2013. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33(5):521.
 53. Mygland Å, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol*. 2010;17(1):8-e4.
 54. Ogrinc K, Lusa L, Lotrič-Furlan S, Bogovič P, Stupica D, Cerar T, et al. Course and Outcome of Early European Lyme Neuroborreliosis (Bannwarth Syndrome): Clinical and Laboratory Findings. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2016;63(3):346–353. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciw299>
 55. Hofmann H, Fingerle V, Hunfeld K-P, Huppertz H-I, Krause A, Rauer S, et al. Cutaneous Lyme borreliosis: Guideline of the German Dermatology Society. *Ger Med Sci* [Internet]. 2017;15:Doc14. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC5588623>
 56. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, Halperin JJ, Steere AC, Klempner MS, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2006;43(9):1089–1134. Available from: <https://doi.org/10.1086/508667>

57. Lindland ES, Solheim AM, Andreassen S, Quist-Paulsen E, Eikeland R, Beyer MK. Imaging in Lyme neuroborreliosis Apparent diffusion coefficient AI Antibody index Bb Borrelia burgdorferi CLIPPERS Cenhancement responsive to steroids CNS Central nervous system CSF Cerebrospinal fluid EFNS European Federation of Neurological Societies FL. 2018;833–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13244-018-0646-x>
58. Träisk F, Lindquist L. Optic nerve involvement in Lyme disease. *Curr Opin Ophthalmol* [Internet]. 2012;23(6):485–490. Available from: <https://doi.org/10.1097/ICU.obo13e328358b1eb>
59. Smith BG, Cruz AI, Milewski MD, Shapiro ED. Lyme disease and the orthopaedic implications of lyme arthritis. *J Am Acad Orthop Surg* [Internet]. 2011;19(2):91–100. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC3656475>
60. Chandra AM, Keilp JG, Fallon BA. Correlates of Perceived Health-Related Quality of Life in Post-treatment Lyme Encephalopathy. *Psychosomatics* [Internet]. 2013 Nov;54(6):552–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.psych.2013.04.003>
61. Fallon BA, Zubcevik N, Bennett C, Doshi S, Rebman AW, Kishon R, et al. The General Symptom Questionnaire-30 (GSQ-30): A Brief Measure of Multi-System Symptom Burden in Lyme Disease. *Front Med*. 2019;6(December).
62. Maloney EL. Controversies in persistent (Chronic) Lyme disease. *J Infus Nurs*. 2016;39(6):369–75.
63. Novak P, Felsenstein D, Mao C, Octavien NR, Zubcevik N. Association of small fiber neuropathy and post treatment Lyme disease syndrome. *PLoS One*. 2019;14(2):1–11.
64. Centers for Disease Control and Prevention. Two-tiered Testing Decision Tree [Internet]. 2011 [cited 2021 Feb 5]. Available from: https://www.cdc.gov/lyme/healthcare/clinician_twotier.html
65. Burlina PM, Joshi NJ, Ng E, Billings SD, Rebman AW, Aucott JN. Automated detection of erythema migrans and other confounding skin lesions via deep learning. *Comput Biol Med* [Internet]. 2019;105:151–156. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2018.12.007>

66. Glatz M, Golestani M, Kerl H, Müllegger RR. Clinical relevance of different IgG and IgM serum antibody responses to *Borrelia burgdorferi* after antibiotic therapy for erythema migrans: long-term follow-up study of 113 patients. *Arch Dermatol* [Internet]. 2006;142(7):862–868. Available from: <https://doi.org/10.1001/archderm.142.7.862>
67. Cook MJ. Health Protection Agency Lyme *Borrelia* Testing Claim. 2012;18(2005):3–4.
68. Moore A, Nelson C, Molins C, Mead P, Schriefer M. Current guidelines, common clinical pitfalls, and future directions for laboratory diagnosis of lyme disease, United States. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(7):1169–77.
69. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. ESCMID eLibrary [Internet]. 2021 [cited 2021 Feb 2]. Available from: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/?q=LYME+DIS EASE&id=2173&L=0&x=0&y=0
70. Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet* (London, England) [Internet]. 2012;379(9814):461–473. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60103-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60103-7)
71. Rauer S, Kastenbauer S, Hofmann H, Fingerle V, Huppertz HI, Hunfeld KP, et al. Guidelines for diagnosis and treatment in neurology – lyme neuroborreliosis. *GMS Ger Med Sci*. 2020;18:1–29.
72. Koedel U, Fingerle V, Pfister HW. Lyme neuroborreliosis - Epidemiology, diagnosis and management. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2015;11(8):446–56. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2015.121>
73. Kuschak T. The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Guidelines from the Canadian Public Health Laboratory Network. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2007;18(2):145–8.
74. Hubálek Z. Epidemiology of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* [Internet]. 2009;37:31–50. Available from: <https://doi.org/10.1159/000213069>
75. Strle F, Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of lyme borreliosis. *Curr Probl Dermatol* [Internet]. 2009;37:51–110. Available from: <https://doi.org/10.1159/000213070>

76. Halperin JJ. Nervous system Lyme disease. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2015;29(2):241–253. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.02.002>
77. Back T, Grünig S, Winter Y, Bodechtel U, Guthke K, Khati D, et al. Neuroborreliosis-associated cerebral vasculitis: long-term outcome and health-related quality of life. *J Neurol* [Internet]. 2013;260(6):1569–1575. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00415-013-6831-4>
78. Garkowski A, Zajkowska J, Zajkowska A, Kulakowska A, Zajkowska O, Kubas B, et al. Cerebrovascular manifestations of lyme neuroborreliosis-A systematic review of published cases. *Front Neurol*. 2017;8(APR):1–8.
79. The Treatment of Early Lyme Disease. *U.S.Pharmacist* [Internet]. 2010 [cited 2020 Dec 20]. Available from: <https://www.uspharmacist.com/article/the-treatment-of-early-lyme-disease>
80. Berende A, ter Hofstede HJM, Vos FJ, van Middendorp H, Vogelaar ML, Tromp M, et al. Randomized Trial of Longer-Term Therapy for Symptoms Attributed to Lyme Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2016;374(13):1209–1220. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1505425>
81. Tory HO, Zurakowski D, Sundel RP. Outcomes of children treated for Lyme arthritis: results of a large pediatric cohort. *J Rheumatol* [Internet]. 2010;37(5):1049–1055. Available from: <https://doi.org/10.3899/jrheum.090711>
82. Dattwyler RJ, Wormser GP, Rush TJ, Finkel MF, Schoen RT, Grunwaldt E, et al. A comparison of two treatment regimens of ceftriaxone in late Lyme disease. *Wien Klin Wochenschr* [Internet]. 2005;117(11–12):393–397. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00508-005-0361-8>
83. Wormser GP, Nadelman RB, Schwartz I. The amber theory of Lyme arthritis: initial description and clinical implications. *Clin Rheumatol* [Internet]. 2012;31(6):989–994. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10067-012-1964-x>
84. Arvikar SL, Steere AC. Diagnosis and Treatment of Lyme Arthritis. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2015 Jun;29(2):269–80. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891552015000185>

85. Weissenbacher S, Ring J, Hofmann H. Gabapentin for the symptomatic treatment of chronic neuropathic pain in patients with late-stage lyme borreliosis: a pilot study. *Dermatology* [Internet]. 2005;211(2):123–127. Available from: <https://doi.org/10.1159/000086441>
86. Rupprecht TA, Elstner M, Weil S, Pfister H-W. Autoimmune-mediated polyneuropathy triggered by borrelial infection? *Muscle & nerve* [Internet]. 2008;37(6):781–785. Available from: <https://doi.org/10.1002/mus.20929>
87. Shen S, Shin JJ, Strle K, McHugh G, Li X, Glickstein LJ, et al. T regulatory cell numbers and function in patients with antibiotic-refractory or antibiotic-responsive lyme arthritis. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Mar 26;23(1):n/a-n/a. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
88. Lantos PM, Shapiro ED, Auwaerter PG, Baker PJ, Halperin JJ, Mcsweegan E, et al. Unorthodox alternative therapies marketed to treat lyme disease. *Clin Infect Dis*. 2015;60(12):1776–82.
89. Steere AC, Arvikar SL. Editorial commentary: what constitutes appropriate treatment of post-Lyme disease symptoms and other pain and fatigue syndromes? *Clin Infect Dis* [Internet]. 2015;60(12):1783–1785. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/civ187>
90. Fallon BA, Keilp JG, Corbera KM, Petkova E, Britton CB, Dwyer E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of repeated IV antibiotic therapy for Lyme encephalopathy. *Neurology* [Internet]. 2008;70(13):992–1003. Available from: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000284604.61160.2d>
91. Klempner MS, Baker PJ, Shapiro ED, Marques A, Dattwyler RJ, Halperin JJ, et al. Treatment Trials for Post-Lyme Disease Symptoms Revisited. *Am J Med* [Internet]. 2013 Aug;126(8):665–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934313002015>
92. Aucott JN, Crowder LA, Crowder LA, Kortte KB. Development of a foundation for a case definition of post-treatment Lyme disease syndrome. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2013;17(6):e443–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.008>

93. Lobraico J, Butler A, Petrini J, Ahmadi R. New insights into stages of lyme disease symptoms from a novel hospital-based registry. *J Prim care & community Heal* [Internet]. 2014;5(4):284–287. Available from: <https://doi.org/10.1177/2150131914540693>
94. Cieszka J, Dabek J, Ciëlik P. Post-Lyme disease syndrome. *Reumatologia*. 2015;53(1):46–8.
95. Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, et al. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4(JUL):1–13.
96. Connally NP, Durante AJ, Yousey-Hindes KM, Meek JI, Nelson RS, Heimer R. Peridomestic Lyme disease prevention: results of a population-based case-control study. *Am J Prev Med* [Internet]. 2009;37(3):201–206. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2009.04.026>
97. Richer LM, Brisson D, Melo R, Ostfeld RS, Zeidner N, Gomes-Solecki M. Reservoir targeted vaccine against borrelia burgdorferi: A new strategy to prevent lyme disease transmission. *J Infect Dis*. 2014;209(12):1972–80.
98. Pound JM, Miller JA, George JE, Fish D. The United States Department Of Agriculture Northeast Area-wide Tick Control Project: history and protocol. *Vector Borne Zoonotic Dis* [Internet]. 2009;9(4):365–370. Available from: <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0182>
99. Kugeler KJ, Jordan RA, Schulze TL, Griffith KS, Mead PS. Will Culling White-Tailed Deer Prevent Lyme Disease? *Zoonoses Public Health* [Internet]. 2016 Aug;63(5):337–45. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/zph.12245>
100. Poland GA. Vaccines against Lyme disease: What happened and what lessons can we learn? *Clin Infect Dis* [Internet]. 2011;52 Suppl 3:s253–8. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciq116>

