

Doença de Lyme : contexto actual

*Lyme disease:
the present status*

Ana Cabral*, Eduardo Melo**

Resumo

A doença de Lyme é uma doença infecciosa multissistémica, presentemente reconhecida em todo o mundo. O agente responsável pela doença é a Borrelia Burgdorferi (espiroqueta), a qual é transmitida ao homem por artrópodes. Dado o seu pleomorfismo clínico, revela-se extremamente importante no diagnóstico diferencial com várias outras doenças, nomeadamente dermatológicas, neurológicas, reumatológicas, oftalmológicas e cardiológicas.

Os autores apresentam uma revisão sobre os conceitos actuais epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e terapêuticos.

Palavras chave: Borrelia burgdorferi, borreliose de Lyme, eritema migrans, artrite de Lyme

Abstract

Lyme disease is a complex multisystemic disorder with a rising incidence worldwide. It is a tick-borne infectious disease caused by a newly recognized spirochete, Borrelia burgdorferi. Lyme disease may mimic and should be differentiated from other immune-mediated disorders as its symptoms may include neurologic, joint, eye or cardiac abnormalities, as well as the typical skin lesion.

The authors describe some new concepts on epidemiology, and clinical characteristics of the disease as well as its diagnosis and treatment.

Key words: Borrelia burgdorferi, Lyme disease, erythema migrans, Lyme arthritis

Epidemiologia e história

A borreliose de Lyme é uma doença infecciosa multissistémica, caracterizada por diferentes quadros clínicos com particular expressão ao nível da pele, coração,

articulações e sistema nervoso. O agente responsável é o espiroquetídeo *Borrelia burgdorferi*^{1,2}, o qual é transmitido ao homem por artrópodes hematófagos (ixodídeos)^{3,4}.

A descrição dos primeiros casos de doença posteriormente atribuídos à *Borrelia burgdorferi* data de 1908. A lesão cutânea típica da doença – eritema migrans – foi descrita pela primeira vez por Afzelius⁵ numa mulher idosa que tinha sido picada por um ixodídeo. Desde então foram assinalados numerosos casos de “eritema crónico migrans”⁵⁻⁷, em diversos países da Europa, sem, contudo, se saber qual o agente responsável pelo seu aparecimento.

Em 1922, Garin e Bujadoux⁸ descreveram o caso de uma mulher com radiculalgias intensas e paralisia de um membro superior, após picada de uma carraça (o que muito provavelmente corresponderia ao envolvimento neurológico da doença de Lyme).

Todavia, apesar das manifestações dermatológicas e neurológicas serem já conhecidas na Europa desde o início do século, o envolvimento cardíaco e articular só foi reconhecido nos EUA em 1977, onde a doença foi descrita pela primeira vez, com características idênticas às da artrite reumatóide num grupo de crianças de Old Lyme⁹. O exantema observado nestes doentes, semelhante ao eritema migrans de Afzelius, associado à mordedura por ixodídeo, contribuiu para a identificação do agente causal. No entanto, só em 1982 foram isoladas espiroquetas do sangue, pele e líquor de doentes com doença de Lyme^{1,10,11}.

Finalmente, em 1984, a espiroqueta isolada recebeu o nome de *Borrelia Burgdorferi*² em homenagem ao cientista Willy Burgdorfer, que a identificou e caracterizou pela primeira vez¹. Com o isolamento do espiroquetídeo, foi possível confirmarem-se casos de doença de Lyme em diferentes regiões do globo, nomeadamente na Austrália¹², Europa Continental¹³, Japão¹⁴, União Soviética¹⁵ e China¹⁶.

Verificou-se então que a distribuição geográfica da doença acompanha a dos vectores e não se restringe apenas às áreas endémicas.

Agente causal

Quanto ao agente etiológico, concorda-se que a designação de *Borrelia burgdorferi* deve ser hoje entendida lato sensu, de modo a englobar todas as estirpes isoladas até ao momento. Na realidade, estudos recentes têm contribuído para uma subdivisão daquela espécie única em quatro novas espécies¹⁷⁻²⁰. *Borrelia burgdorferi* stricto sensu, que tende a estar associada ao quadro articular e neurológico da doença de Lyme, *Borrelia garinni*, que se associa ao quadro neurológico, *Borrelia afzelii*, que tende a associar-se às manifes-

*Assistente Hospitalar de Medicina Interna

**Interno do Internato Complementar de Medicina Interna

Serviço de Medicina I do Hospital de Egas Moniz, Lisboa

Recebido para publicação a 02.08.96

tações dermatológicas, e *Borrelia japonica*, que parece não intervir na etiologia da doença¹⁹.

Assim, a heterogeneidade antigênica das estirpes de *Borrelia burgdorferi* aliada à multiplicidade de vetores (*Ixodides* (*I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. pacificus*, *I. scapularis*, *I. dentatus*, *I. damnini*) e de reservatórios (homem, cavalo, cão, veados, renas, ursos, aves, ratos) susceptíveis à infecção, conferem a esta doença uma importância crescente que é bem patenteada pelo aumento da incidência do número de casos anuais, cuja distribuição geográfica ultrapassa as áreas endêmicas, verificando-se ser mundial. Deste modo, não é, pois, de admirar que se esteja perante uma doença de acentuado pleomorfismo clínico, com uma evolução diversificada no indivíduo infectado, o que torna difícil o diagnóstico e sobre a qual são publicados constantemente novos artigos.

Manifestações clínicas

Têm sido descritos três estadios principais, com diferentes manifestações clínicas. A infecção precoce consiste no estadio 1 (eritema migrans), seguido dentro de alguns dias ou semanas pelo estadio 2 (disseminação da infecção) e dentro de meses por sintomas intermitentes. A infecção tardia, ou estadio 3, usualmente tem início um ano ou mais depois do começo da doença²¹.

A distinção entre manifestações precoces e tardias, apesar de útil, é arbitrária, uma vez que implica uma evolução sequencial da doença, nomeadamente quanto à duração e ao quadro clínico, a qual não acontece num número elevado de casos.

Do ponto de vista clínico, parece ser mais importante a distinção entre a infecção localizada e a disseminada, dado que ela influencia significativamente o diagnóstico e o tratamento do doente.

Por forma a uniformizar os critérios adoptados, foi proposta na 4ª Conferência Internacional sobre Borreliose de Lyme (Estocolmo 1989) a seguinte classificação:

a) *Borreliose de Lyme recente ou precoce*

Infecção localizada: eritema migrans e linfocitoma cutâneo benigno não acompanhado de sinais ou sintomas de infecção disseminada (linfadenopatia e/ou sinais inespecíficos podem estar presentes).

Infecção disseminada recente: lesões cutâneas múltiplas semelhantes ao eritema migrans, neuroborreliose precoce, cardite, artrite ou envolvimento de outras estruturas orgânicas.

b) *Borreliose de Lyme tardia*

Infecção crónica: acrodermatite crónica atrófica, manifestações neurológicas, reumatológicas ou de outros órgãos com persistência durante pelo menos 6 a 12 meses.

As manifestações mais frequentes são as seguintes:

1) manifestações dermatológicas

O eritema migrante, sinal mais característico da doença que, em geral, se inicia no local da inoculação do espiroquetídeo em qualquer zona do corpo, particularmente nos membros inferiores e com um período médio de incubação de 1 a 3 semanas. Na sua forma clássica, manifesta-se como uma mácula eritematosa arredondada que poupa a região central. Este eritema é em regra assintomático, podendo, no entanto, haver queixas de prurido local ou ainda alguns sintomas constitucionais. A lesão cura espontaneamente em semanas ou meses²¹⁻²⁴.

O linfocitoma cutâneo benigno desenvolve-se principalmente nas crianças, sendo o lobo da orelha o local de eleição. Aparece, em regra, como uma lesão nodular vermelho-azulada, acompanhada de linfadenopatia regional²⁵. Histologicamente, observa-se uma marcada infiltração da derme com linfócitos, plasmócitos, macrófagos e alguns eosinófilos²⁶.

A acrodermatite crónica atrófica surge após o desenvolvimento de um estadio de infecção latente, o qual pode ter a duração de meses ou anos. É habitualmente uma doença de idosos, sendo mais frequente nas mulheres. Tem um início insidioso, com a formação de uma erupção macular rosa-violácea, de limites mal definidos, localizada habitualmente na superfície de extensão de um membro. As lesões expandem-se confluem, tornam-se moderadamente infiltradas, e depois de semanas ou meses, a inflamação é substituída por uma atrofia cutânea^{27,28}.

A morfeia e o líquen escleroatrófico têm sido também referidos como alterações cutâneas associadas à *Borrelia burgdorferi*²⁹, embora ainda seja controversa esta associação, uma vez que, até ao momento, apenas se evidenciaram anticorpos específicos nas referidas lesões.

2) manifestações cardíacas

O envolvimento cardíaco ocorre em aproximadamente 8 a 10% dos casos³⁰. Estão descritos graus variáveis de bloqueio auriculoventricular, ocasionalmente com síncope e disfunção do ventrículo esquerdo, obrigando, por vezes, à colocação de pacemaker provisório para suporte hemodinâmico³¹. Mais raramente, surgem referidas miocardites e pericardites³², as quais têm início, em média, três semanas depois da lesão cutânea e habitualmente com a duração de poucas semanas.

3) manifestações neurológicas

Os primeiros sinais observam-se, em média, 4 semanas após a mordedura da carraça, quer no decurso, quer na ausência do eritema migrans. A manifestação neurológica mais importante do estadio de disseminação precoce, designada por síndrome de Garin-Bujadoux-

Bannwarth^{8,33}, corresponde a uma entidade clínica cujo principal sintoma é uma dor migratória intensa que, na maioria dos casos, desaparece espontaneamente num período de 6 meses.

No entanto, são bastante variados os quadros neurológicos na doença de Lyme, estando descritos em particular: meningite com linfocitose no líquido céfalo-raquidiano (LCR), acompanhando-se, por vezes, de proteinorraquia ligeiramente elevada e glicorraquia normal ou discretamente diminuída, encefalite, neuromiosite e paralisia facial. Podem ocorrer mais raramente alterações de outros nervos, nomeadamente do V, VI, IX e XI^{34,35}.

As manifestações neurológicas na fase tardia da doença apresentam maior gravidade nos grupos etários mais idosos. O envolvimento neurológico designado por encefalomielite borreliana progressiva induz lesões graves e definitivas do sistema nervoso central ao fim de vários anos, existindo, por vezes, sinais de tetraparesia espástica³⁶.

São ainda de considerar as alterações do sistema nervoso periférico que surgem em associação com a acrodermatite crónica atrófica em 40% dos casos. Com efeito, podem observar-se sinais de neuropatia periférica sensitiva nos locais onde a pele é atrófica²⁸.

4) manifestações articulares

Meses ou semanas após o início da infecção, cerca de 60% dos doentes não tratados desenvolvem quadros articulares³⁷. A oligoartrite habitualmente é assimétrica, com carácter recidivante, atingindo preferencialmente as grandes articulações, em especial os joelhos. A duração da sintomatologia é variável e em cerca de 10% dos casos assume carácter de cronicidade. O líquido articular mostra um aumento dos polimorfonucleares e uma presença constante de crioglobulinas. A biópsia sinovial revela depósitos de fibrina, proliferação vascular e marcada infiltração de células polimorfonucleares. O factor reumatóide e os anticorpos anti-nucleares são negativos^{38,39}.

5) manifestações oculares

O envolvimento ocular é raro, mas pode manifestar-se em fase precoce ou tardia da doença⁴⁰. Estão descritas conjuntivite folicular, queratite e síndromes inflamatórias como a uveíte e vitrite. O atingimento neurooftalmológico inclui neuro-retinite, atrofia óptica e edema papilar. A paralisia facial pode levar a queratite neurotrófica.

Diagnóstico

Deste polimorfismo de apresentação clínica se desprende a dificuldade de efectuar, para além de um diagnóstico de presunção, um diagnóstico de certeza. Assim, a suspeita do diagnóstico basear-se-á numa his-

tória epidemiológica associada a um quadro clínico compatível, posteriormente confirmado pela presença no soro, LCR ou pele, de anticorpos específicos anti-*Borrelia burgdorferi* detectados por ELISA, por imunofluorescência indirecta (IFI) ou por Western Blot. A associação de ELISA com a técnica de Western Blot para confirmação de resultados duvidosos permite uma maior especificidade e sensibilidade^{41,42}.

Em virtude da elevada taxa de falsos positivos, particularmente com a IFI, de reacções cruzadas com outras espiroquetas, como o *Treponema pallidum*⁴³, e do número não negligenciável de doentes que podem não reagir imunologicamente com o método ELISA⁴⁴, novos métodos foram procurados⁴⁵.

O método da "polimerase chain reaction" permite, pela sua grande sensibilidade, detectar numa amostra um só agente infeccioso. No entanto, e embora este método não forneça nenhuma informação quanto à capacidade de a espiroqueta se desenvolver no hospedeiro (podendo, assim, avaliar a sua virulência) conseguiu evidenciar a co-existência num mesmo doente de *Borrelia burgdorferi* lato sensu pertencendo a espécies diferentes^{46,47}.

Tratamento

Embora a sintomatologia na fase inicial da doença de Lyme possa, com certa frequência, regredir espontaneamente, aceita-se hoje em dia que, no sentido de prevenir futuras complicações, deverá ser instituída terapêutica antibiótica. Assim, a *Borrelia burgdorferi* é sensível, in vitro, a numerosos antibióticos, nomeadamente à penicilina G ou V e seus derivados semi-sintéticos como a amoxicilina, à eritromicina e outros macrólidos, e às tetraciclina. No entanto, a sua eficácia in vivo é um problema mais delicado⁴⁸.

No estadio precoce, recorre-se, por via de regra, à tetraciclina (250 mg qid), doxiciclina (100 mg bid), eritromicina (250mg qid) ou à amoxicilina (500mg tid) durante dez a trinta dias⁴⁹. Nos estadios mais avançados, e nomeadamente na acrodermatite crónica atrófica, na artrite crónica e nas situações de envolvimento neurológico tardio, impõe-se o recurso ao uso terapêutico da penicilina ou de cefalosporinas de terceira geração. Muito embora os esquemas terapêuticos possam variar com os diferentes autores, aceitam-se como eficazes os seguintes^{49,50}:

Doença de Lyme com compromisso neurológico - penicilina G IV (20 milhões de U/dia) ou ceftriaxone (2 gr IV/dia) durante 14 dias.

Artrite crónica por borreliose de Lyme - penicilina benz. (2,4 milhões de U/semana) durante 3 semanas; penicilina G IV (20 milhões de U/dia) ou ceftriaxone (2 gr IV/dia) durante 14 dias.

Acrodermatite crónica atrófica - doxiciclina (100 mg bid), amoxicilina (500 mg tid) ou cefuroxima (500 mg bid) per os durante 3 semanas.

Por vezes, é ainda necessário recorrer ao uso de corticosteróides, nomeadamente em casos de pericardite, falência cardíaca ou de artrite crónica.

Doença de Lyme em Portugal

Já em 1986, Carvalho de Araújo⁵¹ chamava a atenção para a forte possibilidade da sua ocorrência entre nós, mas só três anos mais tarde, em 1989, foi publicado o primeiro caso de doença de Lyme em Portugal por David de Moraes⁵². Seguiu-se, depois, a publicação de um caso isolado⁵³, em 1990.

A maior casuística reporta-se ao Alentejo, já que tem sido a equipa de David de Moraes e do Centro de Estudos de Zoonoses de Águas de Moura quem mais se tem dedicado ao estudo da borreliose em Portugal⁵⁴⁻⁶².

No entanto, e dada a ubiquidade do presumível vector da doença em Portugal (*Ixodes ricinus*) em toda a extensão territorial, julga-se haver casos subdiagnosti-

cados no Centro e Norte do País⁶⁰.

Num estudo realizado em 1992 por Sofia Nuncio e Armindo Filipe, foi demonstrada uma prevalência de anticorpos anti-Borreli burgdorferi de 11,7% numa população rural do Sul do País⁵⁸. A seroprevalência calculada é semelhante à de muitos países europeus. No entanto, não estão definidos quais os vectores e reservatórios com importância na sobrevivência da Borrelia Burgdorferi entre nós, nem as Borrelias spp. existentes em Portugal. Seria interessante caracterizar mais claramente as relações antigénicas das estirpes nacionais com os agentes identificados noutros países⁶³.

As estirpes de Borrelia já isoladas a partir de ixodídeos não parecem ser patogénicas para o Homem⁵⁹. Por outro lado, não foram ainda publicados casos de isolamento laboratorial a partir de doentes infectados. Segundo David de Moraes⁶⁰, nos casos até agora descritos estará incriminada a Borrelia burgdorferi stricto sensu e a Borrelia garinii, mas não a Borrelia afzeli, dada a raridade das manifestações dermatológicas que habitualmente se associam a esta estirpe.

Bibliografia

- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayer SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme Disease - a tick borne spirochetosis? Science 1982; 216:1317-1319.
- Johnson RC, Schmid GP, Hyde FW, Steigerwalt AG, Brenner DJ. Borrelia Burgdorferi sp. nov.:etiologic agent of lyme disease. N Engl J Med 1983; 308:733-740.
- Steere AC, Broderick TF, Malawista SE. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: epidemiologic evidence for a tick vector. Am J Epidemiol 1978; 108:312-321.
- Wallis RC, Brown SE, Kloter KO, Main AJ Jr. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: field study of tick. Am J Epidemiol 1978;108: 322-327.
- Afezlius A. Erythema Chronicum migrans. Acta Derm Venereol 1921; 2:120-125.
- Lipschutz B. Weiterer Beitrag Zur Kenntnis des "Erythema chronicum migrans". Acta Dermatol Syph 1923; 143:365-374.
- Bannwarth A. Zur Klinik Und Pathogenese der "Chronischen lymphocytarem Meningitis". Arch Psychiatr Nervenkr 1944; 117:161-185.
- Garin CH, Bujadoux. Paralyse par les tiques. J de Medicine de Lyon 1922; 71:765-767.
- Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, et al. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarthritis in children and adults in three Connecticut communities. Arthritis Rheum 1977; 20:7-17.
- Benach JL, Bosler EM, Hanrahan JP, et al. Spirochetes isolated from the blood of two patients with Lyme disease. N Engl J Med 1983; 308:740-742.
- Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN et al. The spirochetal etiology of Lyme disease. N Engl J Med 1983; 308:733-740.
- Stewart A, Glass J, Patel A, Watt G, Cripps A, Clancy R. Lyme arthritis in the Hunter Valley. Med J Aust 1982; 1:139.
- Stanek G, Pletschette M, Flamm H, et al. European Lyme borreliosis. Ann NY Acad Sci 1988; 539:274-282.
- Kawabata M, Baba S, Iguchi K, Yamaguti N, Russel H. Lyme disease in Japan and its possible incriminated tick vector, Ixodes persulcatus. J Infect Dis 1987; 156:854.
- Dekonenko EJ, Steere AC Berardi VP, Kravchuk LN. Lyme borreliosis in the Soviet Union: a cooperative US-USSR report. J infect Dis 1988; 158:748-753.
- Ai CX, Wen YX, Zhang YG, et al. Clinical manifestations and epidemiological characteristics of Lyme disease in Hailin county, Heilongjiang Province, China. Ann NY Acad Sci 1988; 539:302-313.
- Baranton G, Postic D, Saint Girons I, et al. Delineation of borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia garinii sp. nov. and group VS 461 associated with Lyme Borreliosis. Int J Syst bacteriol 1992; 42:378-383.
- Canica MM, Nato f, Du Merle L, Mazif J-CL, Baranton G, Postic D. Monoclonal antibodies for identification of borrelia afzeli sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme Borreliosis. Scand J Infect Dis 1993; 25:441-448.
- Postic D, Belfaiza J, Isogal E, Saint Girons I, Grimont AD, Baranton G. A new genomic species in Borrelia burgdorferi sensu lato isolated from japanese ticks. Res Microbiol 1993;144:467-473.
- Balmelli T, Piffaretti JC. Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of Borrelia burgdorferi sensu lato. Res Microbiol 1995; 146(4): 329-340.
- Steere AC. Lyme Disease. N Engl J Med 1989; 321: 586-596.
- Steere AC, Bartenhagen NJ, Craft JE, et al. The early clinical manifestation of Lyme. Ann Intern Med 1983; 99:76-82.
- Asbrink E, Hovmark A. Early and late cutaneous manifestations of Ixodes-borne borreliosis (erythema migrans borreliosis, Lyme Borreliosis). Ann NY Acad Sci 1988, 539:4-15.
- Nadelman RB, Wormser GP. Erythema migrans and early Lyme disease. Am J Med 1995;98(4A): 15S-23S.

25. Sinsky RJ, Piesman J. Ear punch biopsy method for detection and isolation of *Borrelia burgdorferi* from rodents. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1723-1727.
26. Hovmark A, Asbrink E, Olsson I. The spirochetal etiology of lymphadenosis benigna cutis solitaria. *Acta Derm. Venereol.* 1986; 66:479-484.
27. Asbrink E. Erythema Chronicum migrans Afzelius and acrodermatitis chronica atrophicans. *Acta Derm Venereol* 1985; 118 (Supl.):29.
28. Leslie TA, Levell Nj, Cutler SJ et al. Acrodermatitis chronica atrophicans: a case report and review of the literature. *Br J Dermatol* 1994;131(5): 687-693.
29. Aberer E, Stanek G. Histological evidence for spirochetal origin of morphea and lichen sclerosis et atrophicans. *Am J Dermatopathol* 1987; 9:374-379.
30. Steere AC, Batsford WP, Weinberg M, et al. Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. *Ann Intern Med* 1980; 92:8-16.
31. Sigal LH. Early disseminated Lyme disease: cardiac manifestations. *Am J Med* 1995 Apr 24;98(4A): 25S-28S.
32. Olson LJ, Okafor EC, Clements IP. Cardiac involvement in Lyme disease: manifestations and management. *Mayo Clin Proc* 1986; 61:745-749.
33. Bannwarth, A.: Chronische limphozytare Meningitis, entzündliche Polyneuritis und " Rheumatismus". Ein Beitrag zum Problem "Allergie und Nervensystem". *Arch F Psychiatr* 1941; 113:284-376.
34. Pachener AR, Steere AC. The trad of neurologic manifestations of Lyme disease: meningitis, cranial neuritis, and radiculitis. *Neurology* 1985; 35: 47-53.
35. Meier C, Grahmann F, Engelhardt A, Dumas M. Peripheral nerve disorders in Lyme-borrelioses. *Acta Neuropathol* 1989; 79:271-278.
36. Weder P, Wiedersheim B, Matter L, Steck A, Otto F. Chronic progressive involvement in *Borrelia burgdorferi* infection. *J Neurol* 1987; 234:40-43.
37. Steere AC, Gibofsky A, Patarroyo ME, Winchester RJ, Hardin JA, Malawista SE. Chronic Lyme arthritis: clinical and immunogenetic differentiation from rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 1979; 90:896-901.
38. Snyderman DR, Schenkei DP, Berardi VP, Lastavica CC, Pariser KM. *Borrelia burgdorferi* in joint fluid in chronic Lyme arthritis. *Ann Intern Med* 1986; 104:798-800
39. Steere AC. Musculoskeletal manifestations of Lyme disease. *Am J Med* 1995; 98(4A): 44S-48S.
40. Lesser RL. Ocular manifestations of Lyme disease. *Am J Med* 1995;98(4A): 60S-62S.
41. Dressler S, Whalen JA, Reinhardt BN, Steere AC. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. *J Infect Dis* 1993;167: 392-400.
42. Cutler SJ, Wright DJ. Predictive value of serology in diagnosing Lyme borreliosis. *J Clin Pathol.* 1994;47(4): 344-349.
43. Berland R, Fikrig E, Hardin J, Flavelli RA. Molecular characterization of the humoral response to the 41 kilodalton flagellar antigen of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease agent. *Infect Immun* 1991; 59:3531-3535.
44. Misonne MC, Demaerschack I, Anthonissen F, Godfroid E, De Kesel M, Bigaignon G, Hoet P. ELISA-negative Lyme disease patients can be detected by Polymerase Chain Reaction and Western blotting. In VI the International Conference on Lyme Borreliosis, Program and Abstracts P115T, Bologna, Italy, June 1994.
45. Magnarelli LA. Current status of laboratory diagnosis for Lyme disease. *Am J Med* 1995 Apr 24;98(4A): 10S-12S.
46. Demaerschalck I, Abdelouahid BM, De Kesel M, et al. Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. *J Clin Microbiol* 1995; 33(3): 602-608.
47. Van Dam AP, Kuiper H, Vos K, et al. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme Borreliosis. *Clin Infect Dis* 1993; 17:708-717.
48. Mursic VO et al. In vitro and in vivo susceptibility in *Borrelia burgdorferi*. *Eur Clin Microbiol* 1987;6: 424-426.
49. Sigal LH. Persisting complaints attributed to chronic Lyme disease: possible mechanisms and implications for management. *Am J Med* 1994;96: 365-374.
50. Weber K, Pfister HW. Clinical management of Lyme borreliosis. *Lancet* 1994;343: 1017-1020.
51. Carvalho-Araújo F. Editorial: doença de Lyme - um alerta! *Rev Port Doenç Infec* 1986; 9 (2): 2-5.
52. David-de-Morais JA, Filipe A R, Nuncio MS. Doença de Lyme em Portugal: caso clínico. *Rev Port Doenç Infec* 1989; 12 (4): 261-274.
53. Girão F, Alexandre JC, Henriques P et al. Doença de Lyme. A propósito de um caso clínico. *Coimbra Méd* 1990;11: 323-327.
54. Filipe AR, David-de-Morais JA, Nuncio MS. A doença de Lyme no sul de Portugal. Evidência laboratorial e epidemiológica acerca da presença da *Borrelia burgdorferi*. *Rev Port Doenç Infec* 1990;13 (1): 45-50.
55. David-de-Morais JA. As borrelioses no sul do país. Perspectiva de saúde ambiental. *Rev Port Doenç Infec* 1991;14: 115-119.
56. David-de-Morais JA. Ineficácia da terapêutica com tetraciclina na fase precoce da doença de Lyme. Escorço breve sobre um caso clínico. *Rev Port Doenç Infec* 1992;15: 277-284.
57. David-de-Morais JA, Leitão AL, Páscoa BGF, et al. Doença de Lyme. A nossa experiência clínica na região do Alentejo. *Rev Port Doenç Infec* 1992;15: 227-245.
58. Nuncio MS, David-de-Morais JA, Filipe AR. Pesquisa de anticorpos anti-*Borrelia burgdorferi* numa população do distrito de Évora. *Rev Port Doenç Infec* 1992;15: 173-176.
59. Nuncio MS, Peter O, Alves MJ et al. Isolamento e caracterização de Borrelias de *Ixodes ricinus* em Portugal. *Rev Port Doenç Infec* 1993;16:175-179.
60. David de Morais JA. Doença de Lyme. Revisão atualizada. *Rev Port Doenç Infec* 1994;17: 129-137.
61. David de Morais JA, Abranches J, Parra J, et al. Artrite de Lyme, a propósito dos primeiros casos diagnosticados em Portugal. *Rev Port Doenç Infec* 1994;17: 183-195.
62. Ramos P, Fernandes C, Moreira J et al. Doença de Lyme, forma rara de apresentação. *Med Int* 1994;1(3): 161-165.
63. Colares Pereira M. *Borrelia burgdorferi*, o agente da Borreliose de Lyme. Monografia como complemento da Tese de Doutoramento. IHMT s/d.