

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE DOIS ISOLADOS DE BORRELIA SPP. MANTIDOS EM CULTIVO IN VITRO PARA ESTUDOS NA AMÉRICA LATINA

IX Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ (RAIC 2021/2022) e III Reunião Anual de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (RAIDTec 2021/2022) - UFRRJ, 0ª edição, de 15/05/2023 a 19/05/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-041-0

BRANDÃO; Ellen Meireles¹, FREITAS; Aline Nascimento Furtado de², CORDEIRO; Matheus Dias³, BAÊTA; Bruna de Azevedo⁴, FONSECA; Adivaldo Henrique da⁵

RESUMO

Código do projeto: PVIV2544-2021 *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Bbsl) refere-se a todos os isolados dispostos dentro de um grupo formado por 20 espécies de espiroquetas reconhecidas e 3 espécies propostas, todas relacionadas geneticamente à *B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.). Grande parte das bactérias pertencentes ao complexo Bbsl, são causadoras da Borreliose de Lyme, transmitida por vetores, como os carrapatos, principalmente no hemisfério norte. Portanto, esse estudo teve como objetivo a caracterização molecular de *B. burgdorferi* s.s. cepa G39/40 e *Borrelia garinii*, ambas mantidas em cultura com BSK-H desde a década de 90 em laboratórios no Brasil. Para o cultivo e isolamento, as cepas de *Borrelia* spp. foram mantidas em nitrogênio líquido a -196°C e descongeladas e cultivadas em 10mL de meio Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) suplementado com 6% de soro de coelho, a 34°C em estufa bacteriológica. Quando os cultivos atingiram a concentração de aproximadamente 7x10⁶ espiroquetas/ml, uma alíquota de 200 µl foi coletada para extração de DNA de cada cepa. Esta foi feita utilizando o kit de extração BioFlux[®] e na sequência, as amostras foram submetidas aos ensaios de PCR (reação em cadeia da polimerase) convencional, com “primers” para os genes 16S rRNA (1523 bp), *ospA* (890bp), *ospC* (558 bp) e *flaB* (989 bp). Por fim, os produtos de PCR em gel de agarose foram separados por eletroforese, corados com brometo de etídio para serem visualizados em transiluminador de luz UV, estimando-se o tamanho dos fragmentos amplificados. Os fragmentos foram sequenciados em ambas as direções em um analisador genético automatizado, pelo método Sanger. Foram obtidas as sequências e alinhadas através do programa DNA Baser[®], submetidas a pesquisa de homologia com outras sequências depositadas no GenBank, utilizando-se a ferramenta BLASTn. Após análise, o isolado de *B. burgdorferi* stricto sensu apresentou identidade de: 100% (1425/1425) com *B. burgdorferi* cepa B31 (CP019767) no gene 16S rRNA; 100% (555/555) com *B. burgdorferi* cepa 118a (DQ437444) no gene *ospC*; 99,67% (909/912) com *B. burgdorferi* cepa B31 (CP019767) no gene *flaB*; 99,5% (795/799) com *B. burgdorferi* cepa B31 (AE000790) no gene *ospA*. O isolado de *B. garinii* stricto sensu apresentou: 100% (903/903) com *B. garinii* cepa PKie (CP075403) no gene *flaB*; 99,73% (1453/1457) com *B. garinii* cepa PKie (CP075403) no gene 16S rRNA; 92,3% (739/800) com *B. garinii* subespécie *bavariensis* cepa PBi (CP028873) no gene *ospA*. O gene *ospC* não amplificou para *B. garinii*. Portanto, ambas cepas mantidas em laboratório pertencem ao complexo Bbsl. Vale destacar que as espécies de carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Amblyomma* não estabelecem uma infecção por espiroquetas do complexo Bbsl e, portanto, não têm capacidade vetorial, dificultando estudos de transmissão e interação *in vitro* dessas bactérias com carrapatos desses gêneros através de alimentação artificial e/ou cultivo celular. Em suma, destaca-se a importância de pesquisas como esta, para que haja a melhor análise e interpretação, minimizando os resultados falsos negativos ou positivos em relação a infecção por agentes do complexo Bbsl em diferentes gêneros de carrapatos. Agradecimentos: CNPq e FAPERJ

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, ellenmeireles.b@gmail.com
² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, alinefurtadodefritas@gmail.com
³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, mathcordeiro@hotmail.com
⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, babaeta@ufrrj.br
⁵ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ, adivaldofonseca@yahoo.com

