

**TÍTULO:** DETECÇÃO MOLECULAR DE *Borrelia burgdorferi* sensu lato EM CARRAPATOS *DERMACENTOR NITENS* (ACARI: IXODIDAE) NO BRASIL

**AUTOR(ES):** ISABELLA MAIUMI Z Aidan BLECHA, MARCOS VALÉRIO GARCIA, VINÍCIUS DA SILVA RODRIGUES, BÁRBARA GUIMARÃES CSORDAS, LEANDRO DE OLIVEIRA SOUZA HIGA, JACQUELINE CAVALCANTE, RENATO ANDREOTTI,

**PALAVRAS-CHAVES:** *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Dermacentor nitens*. flgE. Reação em cadeia da polimerase

**RESUMO:**

**Introdução:** A borreliose de Lyme (BL) é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por espiroquetas pertencentes ao complexo *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Os sintomas da borreliose brasileira se assemelham às manifestações clínicas da BL, porém, existem diferenças entre essas enfermidades. Primers normalmente utilizados para diagnosticar a Doença de Lyme não conseguem detectar cepas de borrelia no Brasil. Apesar de os principais vetores de *B. burgdorferi* sensu stricto serem carrapatos do gênero *Ixodes*, as espécies *Amblyomma americanum*, *A. cajennense* e *Dermacentor variabilis* também têm sido associadas com a transmissão da *B. burgdorferi*. No Brasil, já foi demonstrada a presença de *Borrelia* sp. em carrapatos dos gêneros *Amblyomma*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor*. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar a presença de DNA de *Borrelia burgdorferi* sensu lato em carrapatos *D. nitens* parasitando equinos de diferentes regiões brasileiras utilizando primers referente a um gene conservado que sintetiza o gancho flagelar (flgE) da *B. burgdorferi* sensu lato e primers específicos (Ospa). **Material e Métodos:** Para tanto, foram utilizadas 94 teleóginas da espécie *Dermacentor nitens*, sendo 51 de São Paulo, 37 de Mato Grosso e 6 de Manaus. O DNA foi extraído utilizando protocolo caseiro com tiocianato de guanidina e fenol. Sua qualidade foi avaliada por meio de espectrofotometria em aparelho Nanodrop. A reação em cadeia da polimerase foi realizada utilizando primers flgE (5'-CGCCTATTCTAACTTGACCCGAAT - 3') and flgE (5'- TTAGTGTTCTTGAGCTTAGAGTTG - 3') e Ospa (5'-AATAGGTCTAATATTAGCCTTAATAGC-3') e (3' CTAGTGTTTGCCATCTTCTTTGAAA-5'). Para todos os dois pares de primers foi otimizado um único protocolo, sendo que cada reação foi realizada em volume final de 25 µL e a mistura para amplificação constituiu-se de: 200 ng de DNA genômico, 0,32 µM de cada iniciador, 10 mM de Tris-HCl, pH 8,0, 50 mM de KCl, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,32 mM de cada dNTP e 0,5 unidade de Taq DNA polimerase. As reações em cadeia da polimerase (PCRs) foram submetidas ao programa: dois minutos para desnaturação inicial a 95°C, seguido de 40 ciclos de um minuto a 94°C, 30 segundos a 54°C e um minuto e 30 segundos a 72°C, finalizando com sete minutos a 72°C para extensão final. Os produtos da PCR foram separados em gel de agarose 1,5% contendo brometo de etídio, visualizados com luz ultravioleta e fotografados. **Resultados:** Os primers flgE e Ospa geram fragmentos de 470 pares de bases (pb) e 308pb, respectivamente. Esses amplicons só foram revelados nas amostras utilizadas como controles positivos pois não foi detectada presença de borrelia em nosso estudo. Outras amostras ainda serão processadas e analisadas. **Conclusão:** Apesar de não encontrarmos amostras positivas na população estudada, diversas publicações de relatos da presença de DNA de *B. burgdorferi* em *D. nitens* evidenciam perspectivas promissoras para a determinação da taxa de infecção de *B. burgdorferi* na população equina.