

Aprimoramento dos métodos de cultivo curto *ex vivo* de *Plasmodium vivax*

Luiza B. Barros¹, Juliane C. Ribeiro Fernandes¹, e Marcelo U. Ferreira¹

¹ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, ICB-USP, São Paulo, SP, Brasil

INTRODUÇÃO: O estabelecimento de sistemas de cultura para *Plasmodium vivax* é essencial para o avanço no desenvolvimento de novos fármacos e vacinas. Embora culturas *ex vivo* de curto prazo sejam frequentemente bem-sucedidas, a baixa reprodutibilidade entre experimentos ainda representa um obstáculo significativo. Nesse contexto, a otimização de um protocolo de cultivo que permita múltiplas passagens de *P. vivax* torna-se necessária para viabilizar e padronizar ensaios de invasão *in vitro*.

OBJETIVOS: Aprimorar um protocolo de cultura curta *ex vivo* por meio de duas estratégias principais: i. interromper o rompimento de esquizontes utilizando um inibidor específico da proteína quinase dependente de GMPc (ML10) com o objetivo de obter esquizontes síncronos e robustos, ii. induzir a liberação de merozoítos a partir da ruptura mecânica dos esquizontes, com o objetivo de padronizar o momento de adição de reticulócitos para a invasão *in vitro*.

MÉTODOS: Foram utilizadas amostras criopreservadas de *P. vivax*, provenientes de pacientes do município de Mâncio Lima (AC) e reticulócitos frescos obtidos do sangue de doadores saudáveis. O bloqueio da ruptura de esquizontes foi realizado com ML10 por 6 horas (36-42h). A ruptura mecânica para obtenção de merozoítos viáveis foi realizada por meio de filtragem sequencial em filtros de 5 um e 1,2 um. O ensaio de invasão foi avaliado após 24 horas para o cálculo da parasitemia.

RESULTADOS: Após 36 horas de cultura, quando os parasitos se encontravam no estágio de esquizonte, avaliou-se o efeito do ML10 nas concentrações de 50 nM, 100 nM e 200 nM por até 6 horas. A concentração de 50 nM apresentou maior viabilidade parasitária, evidenciada pelo bom desenvolvimento dos esquizontes. Além disso, a ruptura mecânica resultou em aumento da parasitemia.

CONCLUSÃO: Os dados obtidos sugerem que ruptura mecânica pode contribuir para a otimização do cultivo *ex vivo* de *P. vivax*, aumentando a capacidade de invasão dos merozoítos.

Financiamento: CAPES (bolsa), FAPESP (2024/04280-2), CNPq (407849/2024-6)

Palavras chave: *Plasmodium vivax*; cultivo *ex vivo*; ML10; Amazônia