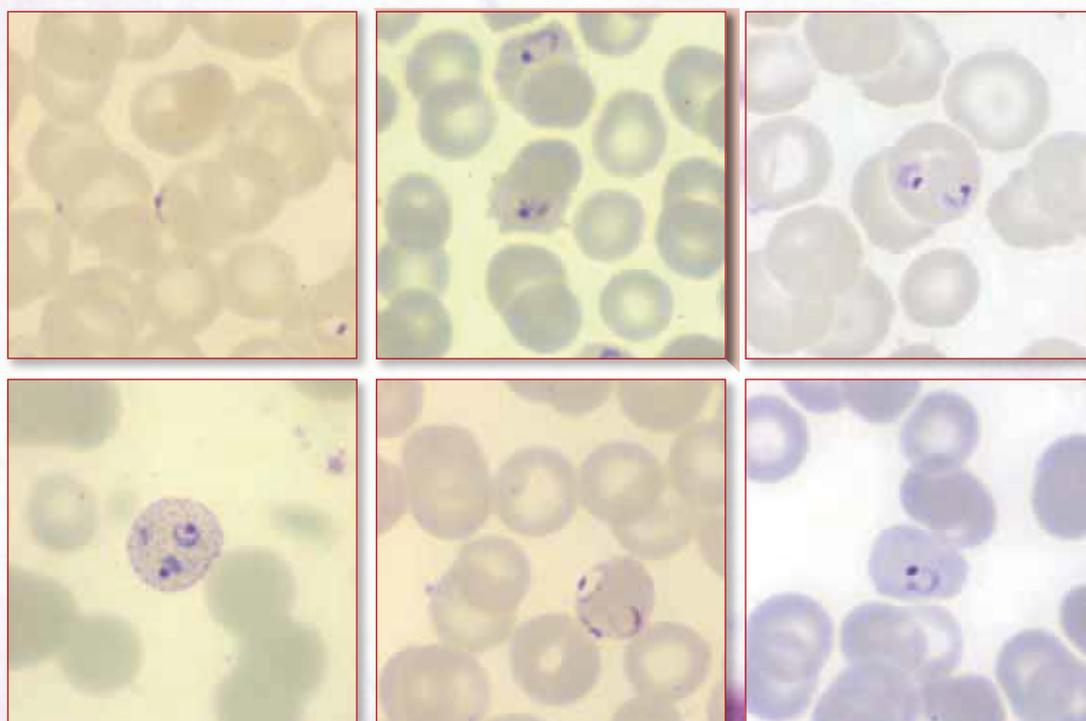


Pranchas para o **DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO DA MALÁRIA**



Dados da Catalogação na Publicação da Biblioteca da OMS

Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária.

1. Malária - diagnóstico.
 2. Plasmodium - citologia.
 3. Plasmodium - atlas.
 4. Técnicas e procedimentos de laboratório.
 5. Microscopia.
 6. Materiais de ensino.
 7. Manuais.
- I. Organização Mundial da Saúde.

Esta coleção foi compilada por John Storey com base nos aportes recebidos de um amplo público de profissionais e especialistas que usaram os *Bench aids for the diagnosis of malaria infections* (OMS, 2000), 2ª edição, projetada e produzida por Prof. Lawrence Ash e Prof. Thomas Orihel. A revisão foi coordenada pelo Escritório Regional da OMS do Pacífico Ocidental para o Programa Mundial sobre Malária da OMS.

Agradecimentos

A Organização Mundial da Saúde agradece à Agência Australiana de Desenvolvimento Internacional (AusAID) e à Federação Russa, que apoiaram financeiramente a preparação desta publicação.

A OMS também deseja agradecer as valiosas sugestões e contribuições técnicas de inúmeros especialistas, que foram incorporadas a esta nova edição: Dra. Kalpana Baruah, Dr. Andrew Beljaev, Dr. David Bell, Dr. Andrea Bosman, Dra. Jane Carter, Sra. Leigh Dini, Sra. Cecil Hugo, Dr. Derryck Karlowski, Dr. Ken Lilley, Dr. Earl Long, Dr. Peter Obare, Dr. Kevin Palmer, Sra. Arlene Leah Santiago e Dr. Raman Velayudhan.

Revisão técnica da versão em português

Sheila Rodrigues Rodvalho (Escritório da Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde no Brasil); Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda (Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado); e Wuelton Marcelo Monteiro (Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado).

© **Organização Pan-Americana da Saúde**, 2020. Alguns direitos reservados. Este trabalho é disponibilizado sob licença CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Número de Referência: OPAS-W/BRA/PHE/COVID-19/20-133

Leitura adicional

Diagnosis of malaria.

Lopez-Antuñano FJ, Schmunis G, eds.

Washington, DC: Organização Pan-Americana da Saúde; 1990 (PAHO Scientific Publications, No. 512).

Laboratory biosafety manual, 3ª ed.

Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2004.

Malaria Microscopy Quality Assurance Manual. Organização Mundial da Saúde, Escritório Regional para o Pacífico Ocidental, 2009.

Malaria: principles and practice of malariology. Vol. 1. Vol. 2.

Wernsdorfer WH, McGregor I, eds.

Edinburgh, Churchill Livingstone, 1988.

Basic Malaria Microscopy, 22ª ed.

Part 1: Learner's guide – Part 2: Tutor's Guide. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2010.

Imagem de fundo da capa: Gota espessa corada pelo método de Giemsa demonstrando infecção mista por *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*. Observam-se formas em anel e um gametócito de *P. falciparum*, além de um grande trofozoíto de *P. vivax*.

Destaques da capa: Fotomicrografias de esfregaços delgados corados pelo método de Giemsa, demonstrando, em sentido horário a partir do canto superior esquerdo: trofozoítos jovens (formas em anel) de 1) *Plasmodium falciparum*, 2) *Plasmodium vivax*, 3) *Plasmodium malariae* e 4) *Plasmodium ovale*; e trofozoítos maduros de 5) *Plasmodium falciparum* e 6) *Plasmodium vivax*.

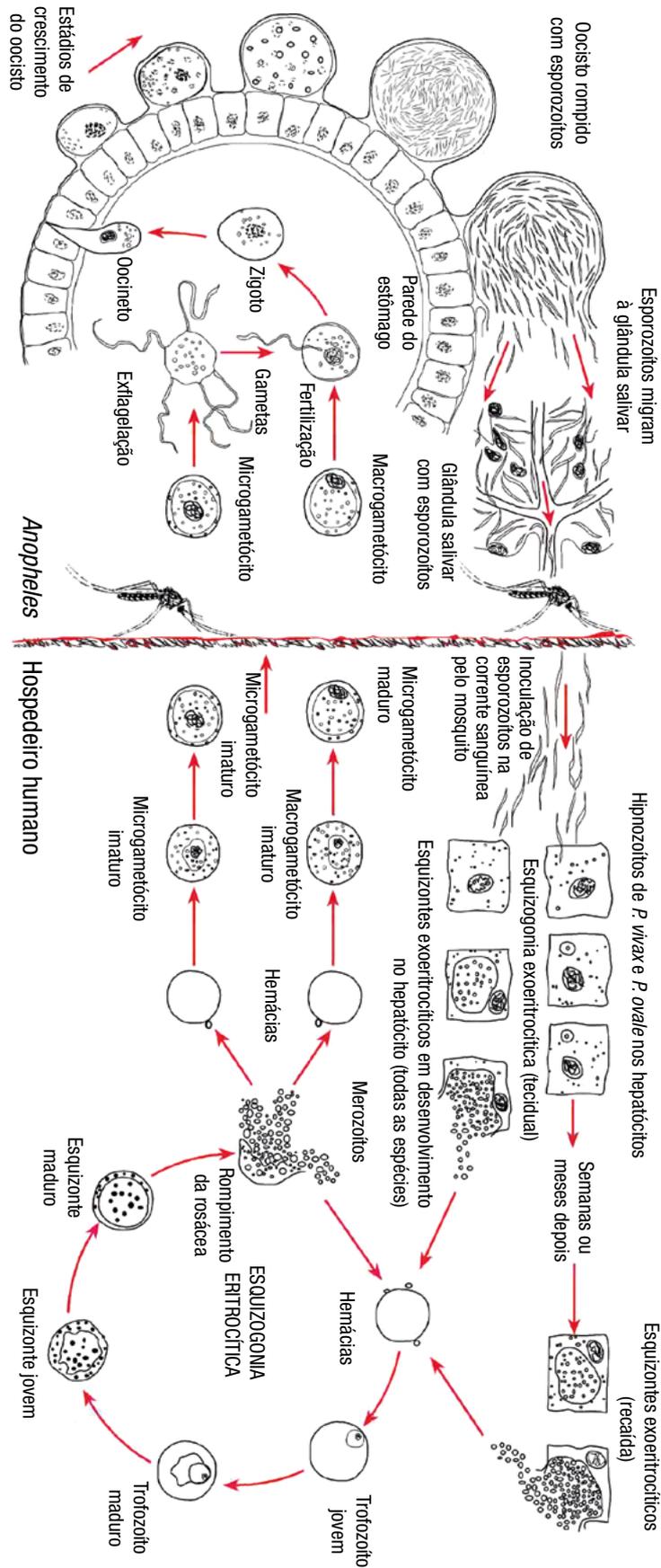
Imagem de fundo da contracapa: Gota espessa corada pelo método de Giemsa demonstrando infecção mista por *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*. Observam-se um gametócito e várias formas em anel de *P. falciparum*, além de um trofozoíto de *P. vivax*.

Sumário

| | |
|--|-------------|
| Sumário | Prancha 1a |
| Ciclo de vida dos parasitos da malária | Prancha 1b |
| Introdução; A malária e seu ciclo biológico | Prancha 2a |
| Elementos figurados, alterações comuns e contaminantes no esfregaço | Prancha 2b |
| Biossegurança; Preparo da gota espessa e do esfregaço | Prancha 3a |
| <i>Plasmodium falciparum</i> em esfregaço | Prancha 3b |
| Cuidado das lâminas; erros comuns na confecção do esfregaço sanguíneo | Prancha 4a |
| <i>Plasmodium falciparum</i> em gota espessa | Prancha 4b |
| Cuidados com o microscópio e sua utilização | Prancha 5a |
| <i>Plasmodium vivax</i> em esfregaço | Prancha 5b |
| Soluções tampão para coloração dos parasitos da malária; efeito do pH na coloração | Prancha 6a |
| <i>Plasmodium vivax</i> em gota espessa | Prancha 6b |
| Coloração dos parasitos da malária pelo método de Giemsa | Prancha 7a |
| <i>Plasmodium malariae</i> em esfregaço | Prancha 7b |
| <i>Plasmodium falciparum</i> ; <i>Plasmodium vivax</i> | Prancha 8a |
| <i>Plasmodium malariae</i> em gota espessa | Prancha 8b |
| Exame de rotina do esfregaço sanguíneo; avaliação quantitativa (contagem de parasitos) na gota espessa | Prancha 9a |
| <i>Plasmodium ovale</i> em esfregaço | Prancha 9b |
| Coloração rápida de esfregaços sanguíneos para pesquisa do parasito da malária | Prancha 10a |
| <i>Plasmodium ovale</i> em gota espessa | Prancha 10b |
| <i>Plasmodium malariae</i> ; <i>Plasmodium ovale</i> | Prancha 11a |
| Infecções mistas; anticoagulantes e dificuldades no diagnóstico de infecções mistas | Prancha 11b |
| Resumo das características de cada estágio e espécie do parasito na gota espessa | Prancha 12a |
| Elementos estranhos no esfregaço de sangue periférico; babesiose | Prancha 12b |

Ciclo biológico da malária

Figura reproduzida (com pequenas alterações) de Bruce-Chwatt's Essential Malariology, London, Arnold, 1993, com permissão de H.M. Gilles e D.A. Warrell (eds.).



Introdução

Estas *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária* servem como guia para laboratoristas e técnicos de campo responsáveis por diagnóstico microscópico da malária pelo método de Giemsa. Também devem ser úteis para professores e alunos de disciplinas correlatas.

As pranchas mostram fotomicrografias coloridas de lâminas de sangue (esfregaços e gotas espessas), coradas, e texto explicativo sobre as quatro espécies de parasitos causadores da malária humana e sua morfologia. São fornecidas descrições completas de cada espécie, bem como instruções sobre o preparo de lâminas e esfregaços, o uso de soluções tampão, o método de coloração Giemsa, o exame das lâminas e procedimentos para estimar a densidade parasitária. Nada será adicionado sobre knowlesi e simium? Acho importante até para que as pessoas saibam com o que se parecem.

Também são descritos outros elementos celulares observados no sangue, bem como vários contaminantes comuns que podem ser confundidos com parasitos da malária. Outros parasitos que podem ocorrer em esfregaços de sangue periférico também são apresentados.

As boas práticas de biossegurança para o manuseio de amostras de sangue são claramente abordadas.

Alguns profissionais de saúde consideram que suas habilidades clínicas em diagnosticar a malária são consistentemente precisas. Porém, é sabido que o diagnóstico confiável exige a confirmação por um microscopista experiente de que existem parasitos causadores da malária numa amostra de sangue obtida do paciente, preparada e corada.

A chamada gota espessa, se confeccionada e corada da maneira correta, é usada rotineiramente por examinadores experientes para identificar os estádios do parasito e as espécies causadoras da malária humana. Havendo dúvida, um breve exame do esfregaço correspondente geralmente confirma o diagnóstico. A exatidão é essencial, pois a abordagem ao paciente e a conduta terapêutica podem variar de acordo com a espécie, sua resistência aos medicamentos antimaláricos e a gravidade da infecção. Um erro no diagnóstico, especialmente em casos de *Plasmodium falciparum*, pode levar rapidamente a uma emergência médica, com risco de morte.

Para facilitar a consulta, as pranchas e o texto que as acompanha estão organizados consecutivamente (quando possível) seguindo a rotina usual de um laboratório. Finalmente, a contracapa da coleção contém uma lista de leituras adicionais recomendadas.

A malária e seu ciclo biológico

A cada ano, a malária afeta aproximadamente 250 milhões de pessoas ao redor do mundo, e mais de 880.000 (principalmente crianças) morrem da doença. A malária é mais prevalente nos países em desenvolvimento da África e da Ásia. É causada por um protozoário do gênero *Plasmodium*, do qual quatro espécies são de importância para o ser humano: *Plasmodium falciparum* (a mais perigosa), *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. Os parasitos da malária invadem e destroem as hemácias (glóbulos vermelhos do sangue) e podem afetar órgãos vitais, inclusive o cérebro. A maioria das mortes é resultado da malária cerebral, causada por *P. falciparum*.

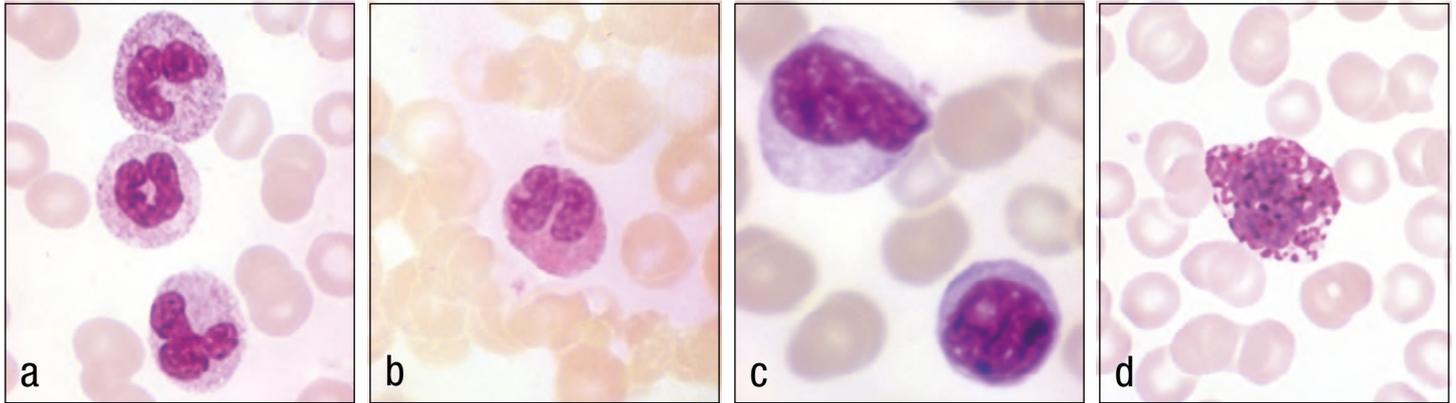
A malária é transmitida aos seres humanos pelas fêmeas dos mosquitos *Anopheles*. Das 70 espécies que transmitem malária ao redor do mundo, cerca de 40 são vetores importantes. Os mosquitos são infectados quando se alimentam de uma pessoa cujo sangue contém **gametócitos**, as formas sexuais do parasito. Os gametócitos femininos (**macrogametócitos**) e masculinos (**microgametócitos**) amadurecem no intestino do mosquito. A fertilização de um **macrogameta** (feminino) por um **microgameta** (masculino) resulta em um **ocineto** ou zigoto móvel, que migra para a parede intestinal e se transforma em um **ocisto**. O **ocisto** divide-se assexuadamente em até 10.000 **esporozoítos** em forma de fuso e se rompe. Os esporozoítos então migram para as glândulas salivares do mosquito. O desenvolvimento e a multiplicação do plasmódio no vetor dependem da temperatura ambiente: o tempo entre o consumo inicial de sangue infectado (repasto sanguíneo) e a primeira picada infecciosa pode demorar de 7 a 14 dias em temperaturas de 30 a 25°C, ou até mais em temperaturas inferiores. Uma vez que os esporozoítos entram na corrente sanguínea do hospedeiro

humano, são transportados para o fígado, onde invadem as **células parenquimatosas** (hepatócitos) e se transformam em **esquizontes exoeritrocíticos**.

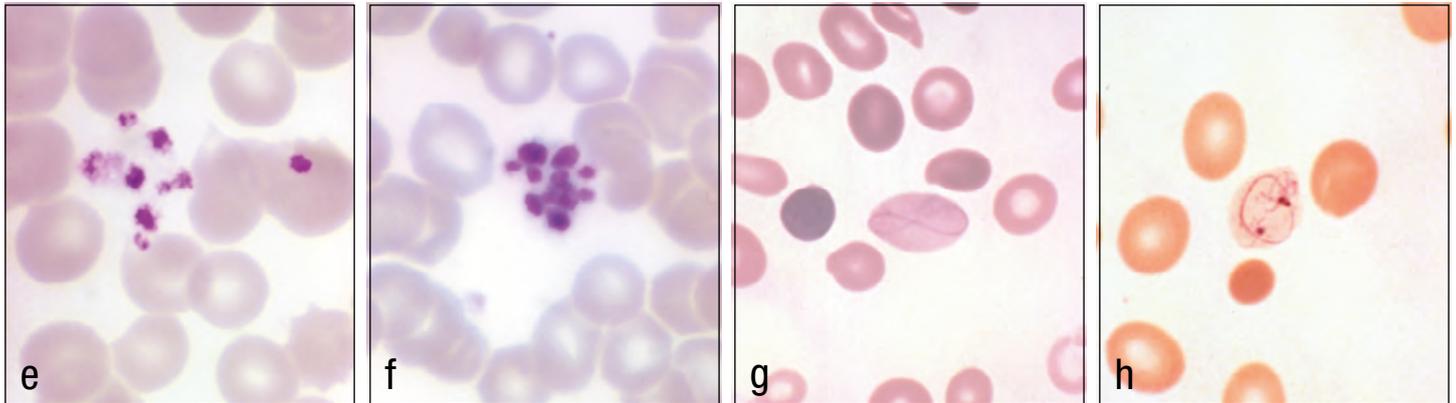
Segue-se uma fase de multiplicação de 5,5–15 dias. Depois, dependendo da espécie, o **esquizonte** maduro se rompe, liberando milhares de **merozoítos** na corrente sanguínea. Na malária por *P. vivax* e *P. ovale*, alguns esporozoítos não se transformam imediatamente em esquizontes; permanecem dormentes por meses na forma de **hipnozoítos**. Este período latente antes do desenvolvimento prosseguir explica as recaídas observadas na malária provocada por essas duas espécies. Nem *P. falciparum* nem *P. malariae* formam hipnozoítos, embora a recidiva devida a hemácias parasitadas não seja incomum na malária sem tratamento.

Os **merozoítos** invadem as hemácias, onde se nutrem da hemoglobina e se desenvolvem, formando **trofozoítos**. Os **trofozoítos** se tornam **esquizontes** nessa **fase eritrocítica**, produzindo **pigmento malárico** como subproduto do metabolismo. A reprodução é por divisão assexuada (**esquizogonia eritrocítica**). Os esquizontes maduros têm de 6 a 24 **merozoítos**, dependendo da espécie. A ruptura da hemácia infectada libera **merozoítos** na corrente sanguínea, onde infectam novas hemácias, retomando o ciclo. A febre ocorre no momento da ruptura das hemácias. A repetição deste ciclo resulta em níveis crescentes de parasitemia. Após várias rodadas de esquizogonia eritrocítica, alguns merozoítos se diferenciam em micro ou macrogametócitos, que, quando ingeridos por um mosquito anofelino durante um repasto sanguíneo, dão origem a outro ciclo de transmissão (ver Prancha 1b).

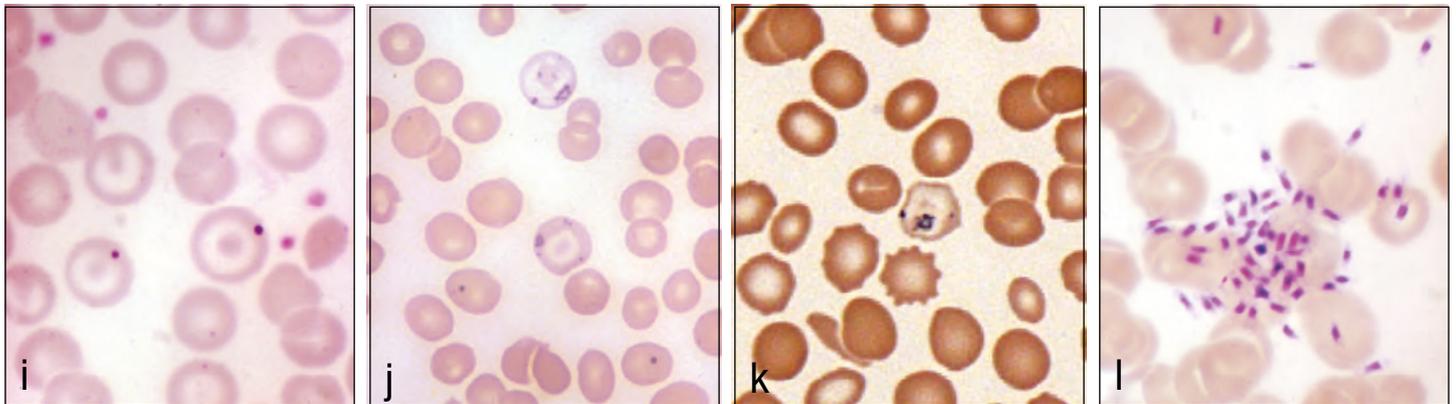
Elementos figurados, alterações comuns e outros contaminantes no esfregaço



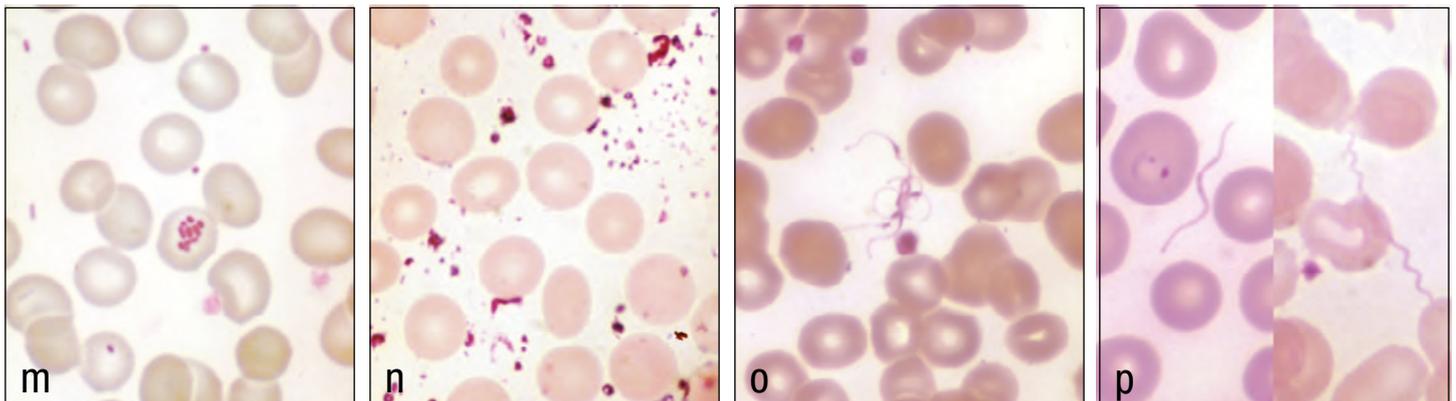
Leucócitos (glóbulos brancos) no esfregaço Neutrófilos (a), eosinófilos (b), linfócitos (a célula menor), monócitos (c) e basófilos (d) são comumente encontrados no esfregaço.



Plaquetas livres entre as hemácias. Quando há plaquetas individuais sobrepostas às hemácias (e) ou agrupadas (f), elas se assemelham superficialmente a esquizontes, e podem ser identificadas incorretamente como tal. Os anéis de Cabot (g, h), uma inclusão celular que geralmente toma a forma de um anel ovalado, ocorrem na anemia grave. Acredita-se que sejam restos de fibras do fuso formadas durante a mitose.



Corpúsculos de Howell-Jolly (i, j) são fragmentos nucleares (DNA) de coloração roxa, às vezes confundidos com os grânulos de cromatina do parasito da malária. Os corpúsculos de Pappenheimer são pequenas inclusões basofílicas e irregulares encontradas nas hemácias; podem ocorrer em associação com os corpúsculos de Howell-Jolly (j) ou isoladamente (k, coloração de Wright; fotomicrografia cortesia de Christiane Wahl). Outros objetos não facilmente identificados (l) podem ser confundidos com parasitos da malária por microscopistas inexperientes.



Contaminação das lâminas A contaminação bacteriana pode ser visualizada na lâmina como um aglomerado sobreposto a uma hemácia (m). Lâminas mal lavadas após a coloração podem reter depósitos de corante (n). Se anticoagulado e mantido à temperatura ambiente, o sangue infectado com malária geralmente apresenta microgametócitos e microgametas em exflagelação (o). Na imagem dividida (p), vê-se um único microgameta com núcleo central adjacente a uma hemácia infectada. Na imagem da direita, observa-se um espiroqueta típico da espécie *Borrelia*. Embora o espiroqueta pareça semelhante a um microgameta da malária, é mais longo, mais espesso e não possui núcleo.

Biossegurança no manuseio de amostras de sangue

Os laboratórios devem seguir as diretrizes nacionais de biossegurança, baseadas em normas internacionais consagradas. Toda amostra de sangue deve ser considerada potencialmente infectante, e a equipe do laboratório deve ser treinada para configurar e usar procedimentos operacionais padrão e diretrizes de biossegurança, como segue:

1. Os procedimentos operacionais padrão devem estar claramente escritos e cobrir todas as etapas dos procedimentos que estão sendo realizados.
2. Treine os funcionários do laboratório nesses procedimentos.
3. Sempre use equipamento de proteção individual (EPI) no laboratório.
4. Use luvas de látex ao colher e manusear amostras de sangue.
5. Evite tocar nos olhos, nariz ou pele com as mãos enluvasadas.
6. Retire as luvas assim que o trabalho estiver terminado. Não saia do local de trabalho usando luvas de proteção.
7. Descarte luvas consideradas contaminadas ou gastas, lave as mãos e vista um par de luvas novas.
8. Lave as mãos com água e sabão imediatamente após qualquer contaminação e após o término do trabalho.
9. Lave bem com água e sabão quaisquer ferimentos perfurantes ou cortantes, bem como qualquer área da pele contaminada por sangue derramado, ou mesmo respingos.
10. Notifique imediatamente ao supervisor do laboratório todos os derramamentos de sangue, acidentes com materiais perfuro-cortantes e exposições reais ou potenciais a amostras infectantes.
11. Descarte as lancetas usadas e agulhas e outros materiais contaminados em um recipiente para perfuro-cortantes.
12. Ao final de cada turno ou dia, limpe todas as superfícies de trabalho com um desinfetante geral, como solução de hipoclorito de sódio em uma concentração de 0,1% de cloro disponível (1g/L).
13. Não coma ou beba longe de áreas designadas; não deve ser permitido fumar em hipótese alguma.
14. Restrinja o acesso ao laboratório a pessoal autorizado.

Preparo de gota espessa e esfregaço na mesma lâmina para microscopia de rotina

Como rotina, analisa-se somente a gota espessa; o esfregaço é usado como rótulo e para confirmar as espécies quando a identificação for difícil.

Você precisará de: lâminas limpas e embaladas; lancetas estéreis; álcool etílico a 70%, água; algodão absorvente; luvas de látex; pano de algodão limpo e sem fiapos; caixa ou tampa para proteger as lâminas de insetos voadores e poeira; fichas de registro; lápis de ponta macia; e caneta esferográfica.

1. Segure a mão esquerda do paciente, com a palma voltada para cima, e pegue o terceiro dedo a partir do polegar. Use o dedão do pé para bebês, mas jamais o polegar (em crianças ou adultos). Remova qualquer gordura e sujeira limpando a ponta do dedo com algodão levemente embebido em álcool etílico a 70%. Faça movimentos firmes para estimular a circulação sanguínea, e seque o dedo com uma gaze ou pano de algodão limpo.
2. Usando uma lanceta estéril, perfure a polpa do dedo com um movimento rápido, como se estivesse enrolando a lanceta. Ordene a primeira gota de sangue e remova-a com um algodão seco. Certifique-se de que não tenha ficado nenhum fiapo de algodão no dedo que poderia se misturar ao sangue.

3. Manuseie as lâminas somente pelas bordas. Agindo rapidamente, colha uma só gota de sangue, mais ou menos deste tamanho ●, bem no meio da lâmina.

Aperte o dedo para que saiam três gotas maiores de sangue, mais ou menos deste tamanho ●, e coloque-as a cerca de 1 cm da gota única destinada ao esfregaço.

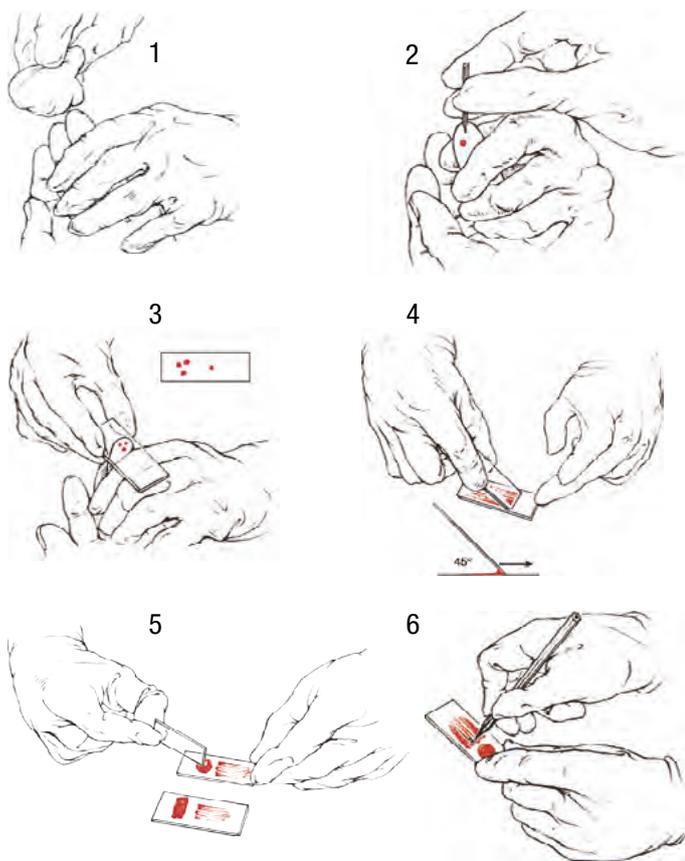
Seque o dedo e aplique pressão no local puncionado para estancar o sangue.

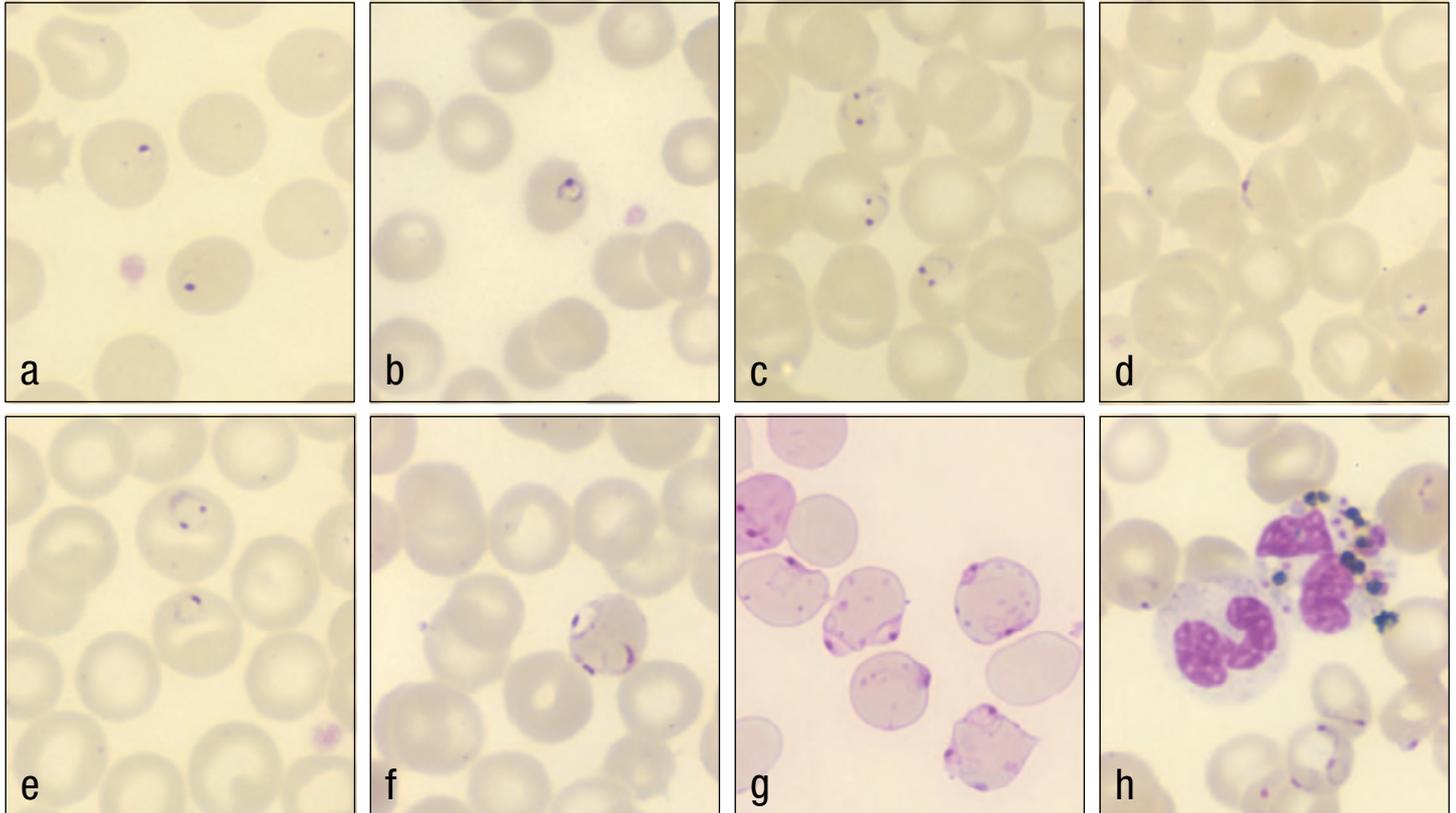
4. **Esfregaço.** Apoie a lâmina com sangue em uma superfície plana e firme. Usando uma segunda lâmina limpa (a chamada lâmina distensora ou extensora), toque a gota menor de sangue até que o sangue corra ao longo da borda. Empurre a lâmina distensora delicadamente mas com firmeza, mantendo um ângulo de 45° e garantindo que ela permaneça em contato uniforme com a superfície da primeira lâmina.
5. **Gota espessa.** Para confeccionar a gota espessa, segure a lâmina distensora pelas bordas ou por um canto. Use a quina da lâmina distensora para juntar rapidamente as três gotas de sangue, espalhando-as um pouco para formar uma película grossa e uniforme. Não “misture” as gotas excessivamente. Bastam de três a seis movimentos contínuos para fazer uma gota espessa circular ou retangular. A gota espessa circular deve ter cerca de 1 cm de diâmetro.
6. Assim que o esfregaço estiver seco, escreva as informações do paciente nele com um lápis macio. Não use caneta esferográfica para rotular. Coloque a gota espessa para secar com a lâmina plana e nivelada. Cuide para que fique ao abrigo de moscas, poeira, calor extremo e luz solar.

A lâmina distensora pode ser usada para preparar o esfregaço do próximo paciente; a próxima lâmina limpa retirada da embalagem se torna a nova lâmina distensora.

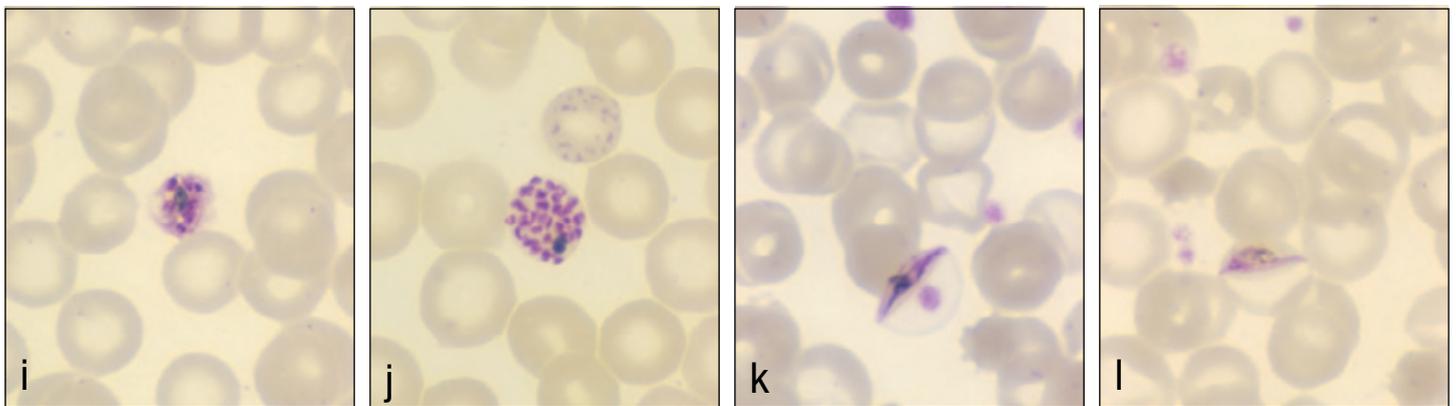
As lâminas secas devem ser enviadas rapidamente para o laboratório, juntamente com as informações ou ficha do paciente.

Observe rigorosamente as medidas apropriadas de segurança durante todo o processo.

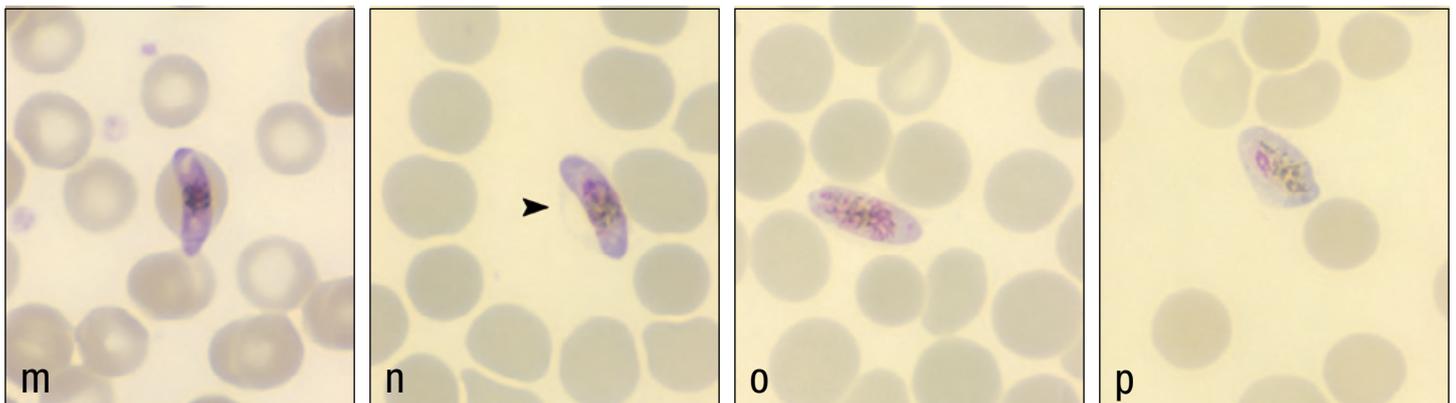


***Plasmodium falciparum* esfregaço**

Trofozoítos. O “anel” delgado de citoplasma azul típico dos trofozoítos de *P. falciparum* é menor do que o das outras três espécies, com um grânulo único (mas muitas vezes duplo) de cromatina vermelho-rubi (a-e). Os merozoítos invadem hemácias de todas as idades, e as infecções múltiplas são frequentes (f-h). A forma chamada de “appliqué” dá a impressão de que o parasito está fora, e não dentro, da hemácia (f, g). A hemácia infectada não aumenta de tamanho. As fendas de Maurer são visualizadas somente em lâminas muito bem coradas (g). Na malária por *falciparum*, não se visualizam trofozoítos em crescimento nem maduros, exceto em infecções com carga parasitária muito alta. A fagocitose é evidenciada pelas massas de pigmento malárico nos granulócitos (h).



Esquizontes. Os esquizontes são raros no sangue periférico. Geralmente, os esquizontes maduros são compactos, contendo de 16 a 24 merozoítos (varia de 8 a 40). O pigmento geralmente se encontra fundido em uma massa única ou dupla, que pode estar localizada em qualquer lugar da hemácia (i, j).



Gametócitos. Em estágio inicial, os gametócitos têm o aspecto de corpos em forma de fuso; geralmente é difícil ver a membrana das hemácias (k, n, seta). Rapidamente, se transformam nos típicos corpos em forma de banana ou salsicha, com extremidades arredondadas (m-o). Os macrogametócitos têm citoplasma azul, e a cromatina é uma massa roxa escura; o pigmento é mais escuro e mais concentrado do que nos microgametócitos (m, n). O citoplasma dos microgametócitos é arroxeado ou rosado, a cromatina é mais difusa e os grânulos de pigmento estão dispersos pelo organismo (o). Alguns microgametócitos tomam formas bizarras (p), dificultando o diagnóstico.

Cuidado das lâminas

Limpeza e armazenamento das lâminas

Lâminas mal limpas resultam em esfregaços de má qualidade e exames imprecisos, colocando os pacientes em risco. Para obter exames confiáveis, certifique-se de que as lâminas estão bem escolhidas, limpas, embaladas e armazenadas.

Use lâminas de vidro de qualidade “superior”, com bordas foscas. Alguns microscopistas preferem lâminas com uma ponta fosca para servir como rótulo. Nos trópicos, lâminas de baixa qualidade rapidamente tornam-se opacas, embaçadas e inúteis. Mesmo lâminas “pré-lavadas” ainda precisam ser lavadas e secas antes do uso.

Lâminas para uso em laboratório hospitalar

- Coloque as lâminas novas separadas, uma a uma, em uma solução morna de água e detergente. Deixe da noite para o dia.
- Segurando um pano de algodão entre o dedo indicador e o polegar, limpe cada lâmina nos dois lados.
- Enxágue cuidadosamente cada lâmina em água corrente para remover o detergente.
- Descarte o excesso de água de cada lâmina e guarde-as em um frasco cheio de álcool com tampa de rosca.

- Quando necessário, seque as lâminas com um pano de algodão limpo e que não deixe fiapos. Manuseie-as apenas pelas bordas.

Lâminas para pesquisa ou coleções histológicas/ bancos de lâminas

- Recicle as lâminas usadas, mergulhando-as da noite para o dia em uma solução morna de detergente; limpe cada lâmina individualmente, como acima, para remover todos os vestígios de óleo de imersão e o esfregaço de sangue anterior.
- Quando estiverem limpas, enxágue bem as lâminas para remover o detergente.
- Seque cada lâmina com um pano de algodão que não deixe fiapos; separe as lâminas lascadas ou arranhadas para usá-las em outras tarefas no laboratório.
- Corte papel limpo em pedaços de 11 cm x 15 cm. Embrulhe as lâminas secas em pacotes de 10; dobre as extremidades do papel para baixo e prenda com fita adesiva transparente.
- Armazene-as nas caixas originais das lâminas (10 pacotes por caixa) e mantenha-as em um armário em local morno até usar.

Erros comuns na confecção do esfregaço sanguíneo

Vários erros são comuns na confecção e preparo de lâminas de sangue (gota espessa e esfregaço). Tais erros podem afetar negativamente a rotulagem, a coloração e o exame.

Esfregaço grande demais e orientado na direção errada; gota espessa no lugar errado

Esfregaços mal posicionados na lâmina podem raspar nas bordas da cuba de coloração e no suporte de secagem; também dificultam o alinhamento da lente objetiva do microscópio para exame.

Muito sangue

Após a coloração, o campo da gota espessa ficará fortemente corado devido ao excesso de leucócitos, o que obscurecerá os parasitos; as muitas camadas de hemácias fixadas tornarão impossível o exame do esfregaço.



Pouco sangue

O exame padrão não será possível, e o esfregaço será pequeno demais para usar como rótulo.



Lâmina engordurada

Partes da gota espessa se desprenderão durante a coloração; a lâmina ficará irregular, dificultando o exame e tornando o resultado não confiável.



Lâmina distensora com borda lascada

O esfregaço delgado terá muitas “caudas”, e a gota espessa pode ficar irregular.

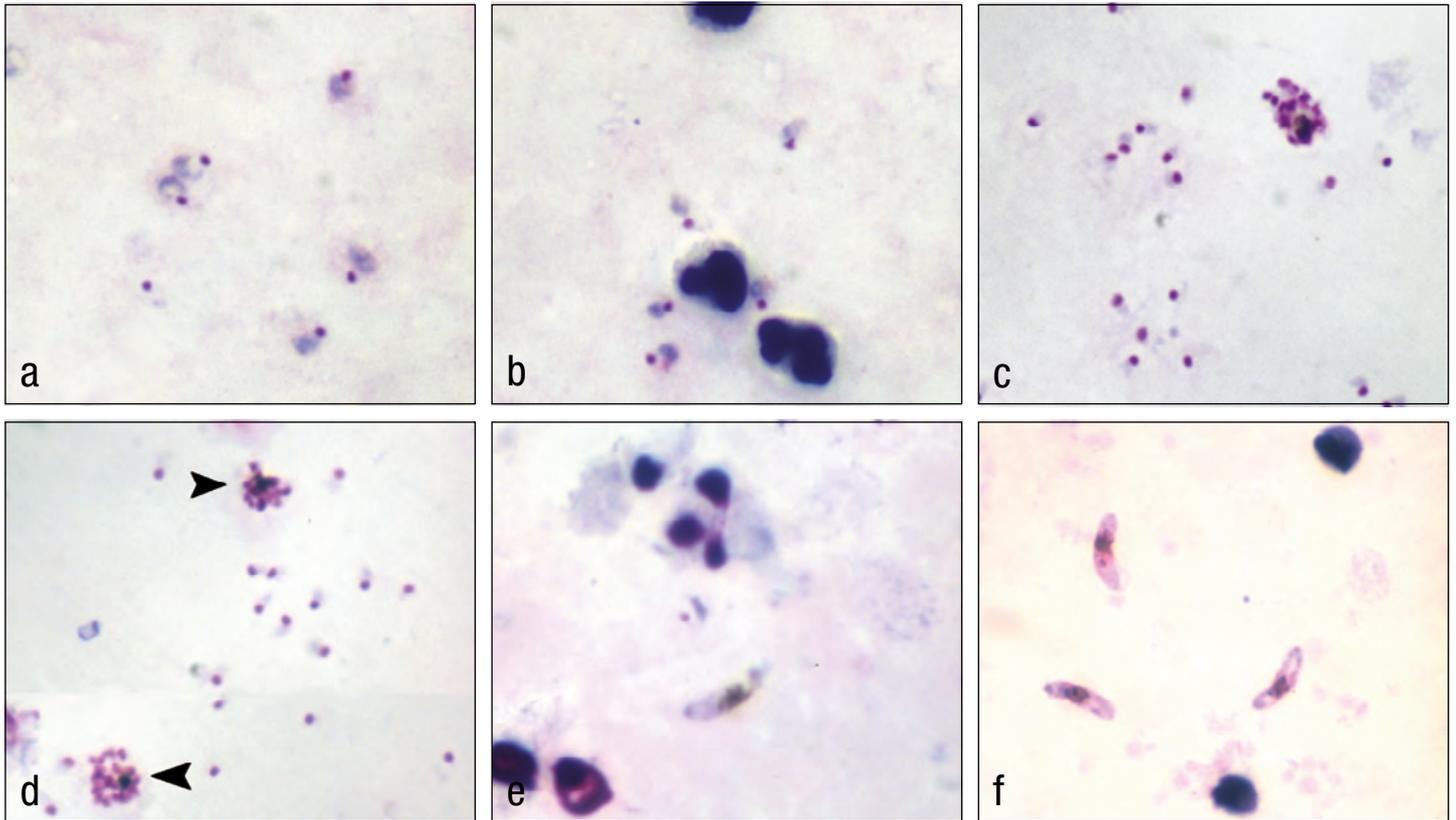


Em ambiente quente e úmido, a demora na coloração pode levar à autofixação da gota espessa, o que resulta em uma lâmina opaca e mal corada.

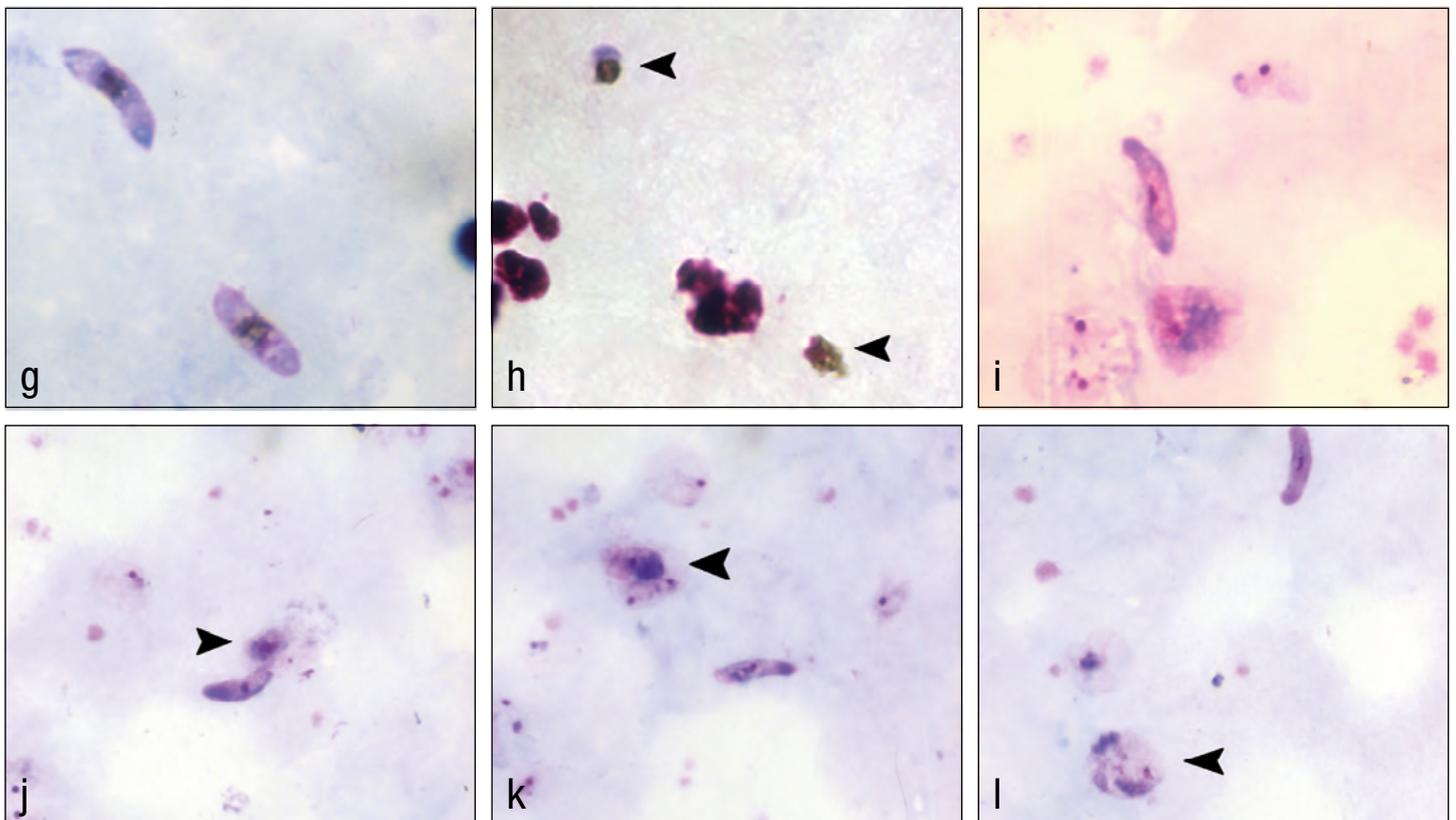
Outros problemas comuns

Outros problemas comuns que ocorrem com frequência no preparo de lâminas de sangue incluem:

- consumo do sangue seco como alimento por moscas, baratas ou formigas, o que danifica o esfregaço;
- uso de lâminas muito arranhadas ou lâminas
- com a superfície “jateada” ou brilhante;
- secagem desigual da gota espessa;
- ocorrência de autofixação da gota espessa com o passar do tempo ou por exposição ao calor, dificultando ou afetando a qualidade da coloração; e
- embrulhar as lâminas juntas antes que todas as gotas espessas estejam devidamente secas, fazendo com que as lâminas grudem umas nas outras.

***Plasmodium falciparum* em gota espessa**

As formas em anel são pequenas, delicadas e numerosas e têm citoplasma escasso (**c, d**); as formas em vírgula são abundantes, assim como os anéis distorcidos pela desemoglobinação durante a coloração. Grânulos duplos de cromatina são comuns, e os trofozoítos mais antigos contêm mais citoplasma, mas os outros estádios geralmente estão ausentes (**a, b**). Esquizontes são vistos raramente, em infecções com carga parasitária elevada (**d**, setas). A presença de grande número de formas em anel sem outros estádios é patognomônica desta espécie (**c**), assim como a presença de anéis e gametócitos típicos em forma de banana (**e**).



Alguns campos parecem conter apenas gametócitos (**f, g**). O manuseio indelicado do sangue durante a confecção da lâmina ou, mais comumente, a secagem lenta demais da gota espessa estimula alterações morfológicas nos gametócitos que dificultam um diagnóstico definitivo do estádio (**h**). Infecções mistas podem ser mais comuns durante a época de transmissão. As fotomicrografias **i, j** e **k** mostram um gametócito de *P. falciparum*, numerosas formas em anel de *P. falciparum* e (seta) um trofozoíto de *P. vivax*; **l** mostra um gametócito de *P. falciparum* e um trofozoíto de *P. vivax* (seta).

Cuidados com o microscópio e sua utilização

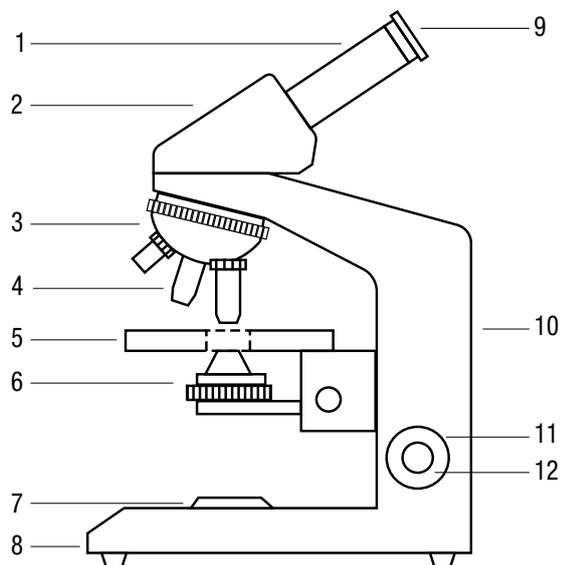
O microscópio

Para microscopia de rotina da malária, utiliza-se um microscópio binocular composto. Com um par de lentes oculares para ampliação 10x e uma objetiva de imersão em óleo com ampliação 100x, gera uma ampliação de 1000x. Para diagnóstico da malária, a microscopia com iluminação natural (luz do dia e um espelho) não é ideal e não é recomendada. Para obter eficiência, é preciso haver uma fonte de luz artificial (lâmpada embutida na base e condensador abaixo da platina). De preferência, um sistema de iluminação LED, alimentado por bateria ou energia solar, deve estar disponível para microscópios que serão utilizados em áreas remotas, com suprimento inadequado de eletricidade. Esse tipo de lâmpada é barato e deve ser incluído no orçamento durante o planejamento. Um filtro azul “luz do dia” converte a luz amarela (elétrica) em luz natural branca, ajudando a minimizar as diferenças cromáticas entre os parasitos corados, facilitando o diagnóstico da malária.

Ajustando a iluminação do microscópio

Para ajustar o microscópio, acenda a lâmpada, levante o condensador ao máximo e abra o diafragma para dois terços da sua abertura máxima. Retire uma ocular e, enquanto olha pelo canhão, alinhe o condensador e a lâmpada de modo que o ponto mais forte de luz fique no centro do condensador. Recoloque a ocular. Ajuste a objetiva para cima, mantendo-a longe da platina, e coloque uma gota de óleo de imersão na lâmina a ser examinada. Olhando pela lateral do microscópio, use o botão de ajuste macrométrico para abaixar delicadamente a objetiva até que a lente toque o óleo de imersão. Ajuste a luz para uma intensidade confortável e faça o ajuste fino de foco usando o botão micrométrico. Examine a lâmina conforme os procedimentos padrão.

Ao final da sessão de trabalho, retire cuidadosamente o óleo de imersão da objetiva com papel para limpeza de lentes. Remova delicadamente o óleo de imersão da lâmina examinada com um lenço de papel macio.



Cuidados com o microscópio

As lentes e prismas do microscópio devem ser protegidos contra poeira e fungos. Quando não estiver em uso na bancada, o microscópio deve ser protegido contra poeira com um pano ou capa de plástico. Em climas úmidos, o microscópio deve ser armazenado em uma “estufa” para proteger as lentes do crescimento de fungos. Esta deve ser uma caixa ou armário mantida quente e seca com uma lâmpada de 15–25 W constantemente acesa. Onde não houver eletricidade, cada microscópio deve ser armazenado em uma caixa plástica com tampa hermética; a umidade na caixa pode ser mantida baixa com um frasco aberto cheio de sílica gel ativa. A sílica deve ser auto-indicativa (azul enquanto ativa, rosa quando precisar ser reativada). Para reativá-la, basta aquecer no forno ou no fogão, geralmente duas vezes por mês. Microscópios, lentes, câmeras e projetores protegidos dessa maneira podem ser mantidos permanentemente livres do crescimento de fungos.

Sempre:

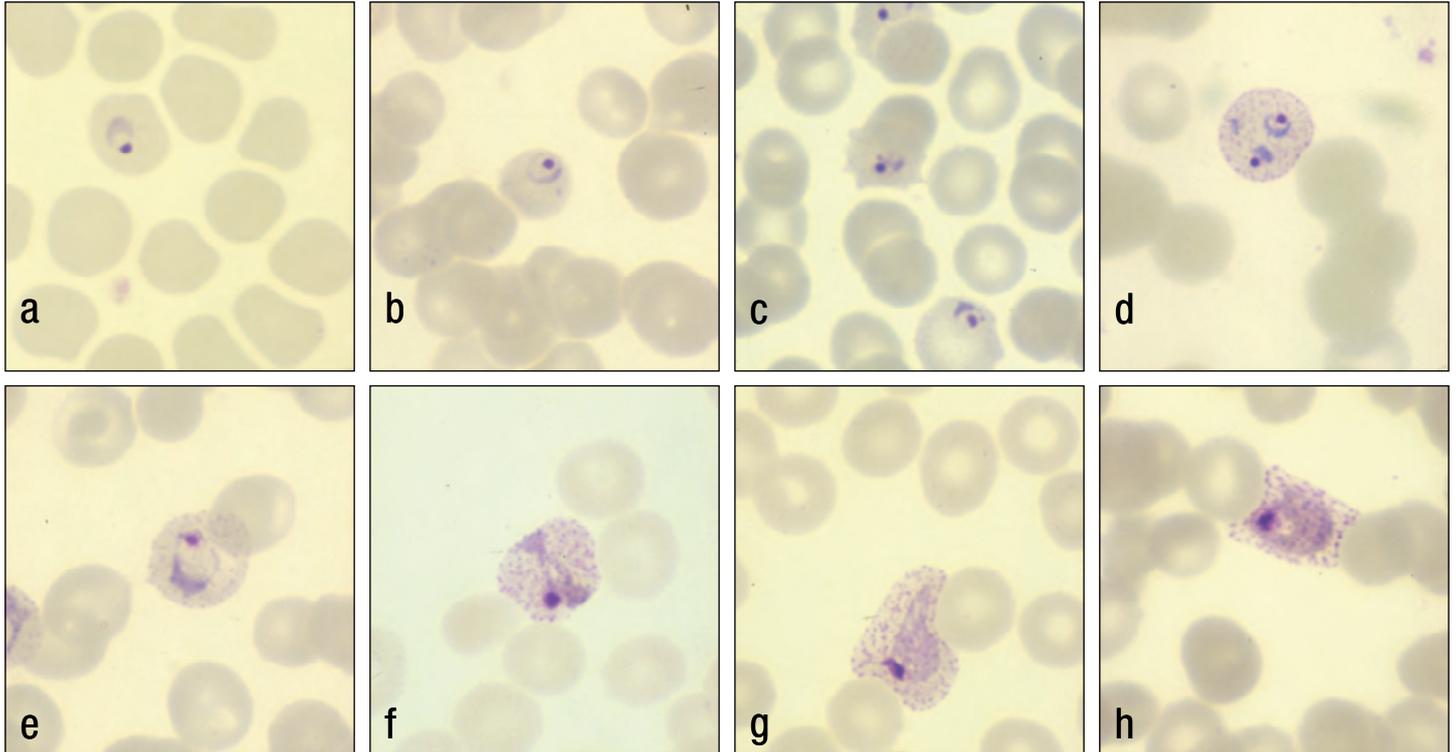
- cite o modelo do microscópio, o nome e o número da peça ao solicitar peças de reposição, se possível; e
- limpe o óleo de imersão da objetiva diariamente.

Nunca:

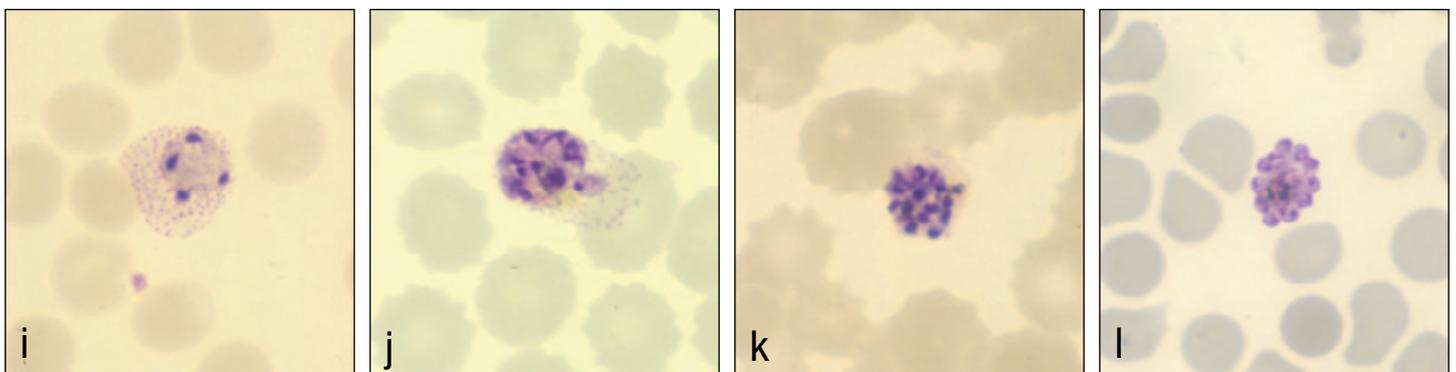
- desmonte o microscópio, a menos que seja treinado para fazê-lo;
- use álcool para limpar o microscópio;
- deixe o porta-lentes descoberto. Use as tampas apropriadas ou fita de vedação;
- use lentes e peças de outros microscópios;
- transporte um microscópio sem garantir que o parafuso de retenção esteja bem preso.

Partes de um microscópio composto típico

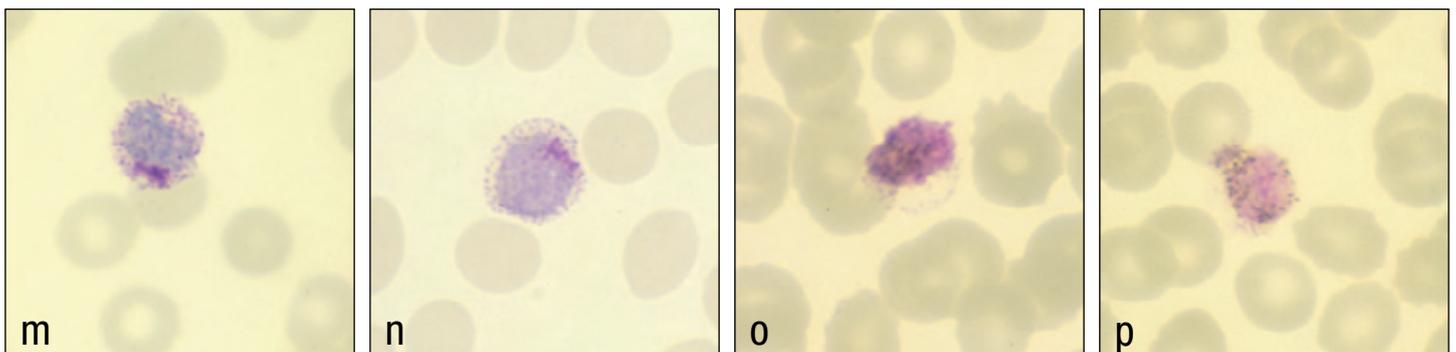
1. Tubo ou canhão
2. Cabeçote (prisma)
3. Revólver (porta-objetivas)
4. Objetiva
5. Platina
6. Condensador com diafragma de abertura
7. Lâmpada
8. Base (pé)
9. Ocular
10. Braço (estativa)
11. Botão macrométrico
12. Botão micrométrico

Plasmodium vivax thin film

Trofozoítos. É difícil diferenciar espécies quando apenas o estágio em anel está presente. Em cada uma das fotomicrografias (a, b e c), as hemácias infectadas não estão aumentadas de tamanho, não há granulações de Schüffner, tampouco formas ameboides. Cada uma dessas características ajuda no diagnóstico da infecção por *P. vivax*. A confirmação requer um exame mais detido do filme e identificação de outros estádios de *P. vivax*. Outros estádios e a presença de formas em anel, como em a, b e c, pode sugerir uma infecção mista de *P. falciparum* e *P. vivax*. A infecção dupla dos eritrócitos por *P. vivax* é menos comum. Num caso como d, o microscopista deve fazer um exame mais detalhado da lâmina para se certificar de que seja *P. vivax* e não *P. ovale*. A combinação de formas ameboides do trofozoíto, ingurgitamento celular considerável e granulações de Schüffner visíveis é altamente indicativa de infecção por *P. vivax* (e-h).



Esquizontes. Inicialmente grande e de aspecto amebóide, o esquizonte típico se divide rapidamente em uma massa irregular, formando de 12 a 24 merozoítos. Cada merozoíto é composto por uma pequena massa de citoplasma (de coloração azul) e um discreto ponto de cromatina (vermelha). A granulação de Schüffner é evidente, e o pigmento forma um ou dois pequenos aglomerados irregulares (i-l).



Gametócitos. Geralmente difíceis de distinguir dos trofozoítos maduros, os gametócitos costumam apresentar um contorno redondo e regular. Uma hemácia que contenha um gametócito geralmente estará aumentada, com granulação de Schüffner bastante proeminente (m, n). Os macrogametócitos (m, n) são grandes e predominantemente azuis, com uma pequena massa de cromatina compacta de cor vermelha muito forte e escura. Os microgametócitos (o, p) apresentam-se como uma massa grande e difusa de cromatina cor de tijolo, com um citoplasma azul claro que parece conter grânulos dispersos de pigmento.

Soluções tampão para coloração dos parasitos da malária

Uma solução tampão de fosfato a pH 7,2 é essencial para um exame microscópico preciso pelo método de Giemsa. Podem-se usar comprimidos tampão prontos, mas são caros e estragam facilmente nos trópicos.

Solução tampão para uso diário

1. Dissolver 1,0 g de fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) e 0,7 g de fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
2. Verificar o pH com pHmetro, indicador colorimétrico ou papel de tornassol.
3. Se o pH estiver abaixo de 7,2, ajustar com pequenas quantidades de Na_2HPO_4 a 2%; se o pH estiver acima de 7,2, adicionar KH_2PO_4 a 2%.
4. Assim que o tampão estiver equilibrado em pH 7,2, transferir para um frasco de vidro escuro bem fechado. Manter ao abrigo da luz solar.

Esta solução dura algumas semanas, mas deve ser examinada periodicamente para ver se não há bolor. Para isso, deve-se agitar o frasco e desprezar a solução quando estiver turva.

Solução estoque (concentrada) para expedições de campo ou campanhas em locais remotos

1. Dissolver 3,0 g de Na_2HPO_4 anidro e 2,1 g de KH_2PO_4 em 25 mL de água destilada ou deionizada.
2. Se o pH estiver abaixo de 7,2, ajustar com pequenas quantidades de Na_2HPO_4 a 2%; se o pH estiver acima de 7,2, adicionar KH_2PO_4 a 2%.
3. Armazenar em frasco de vidro escuro. A solução dura algumas semanas; examinar regularmente se há bolor como descrito acima.
4. Para obter a solução de trabalho, diluir 1 mL do concentrado em 20 mL de água destilada ou deionizada.

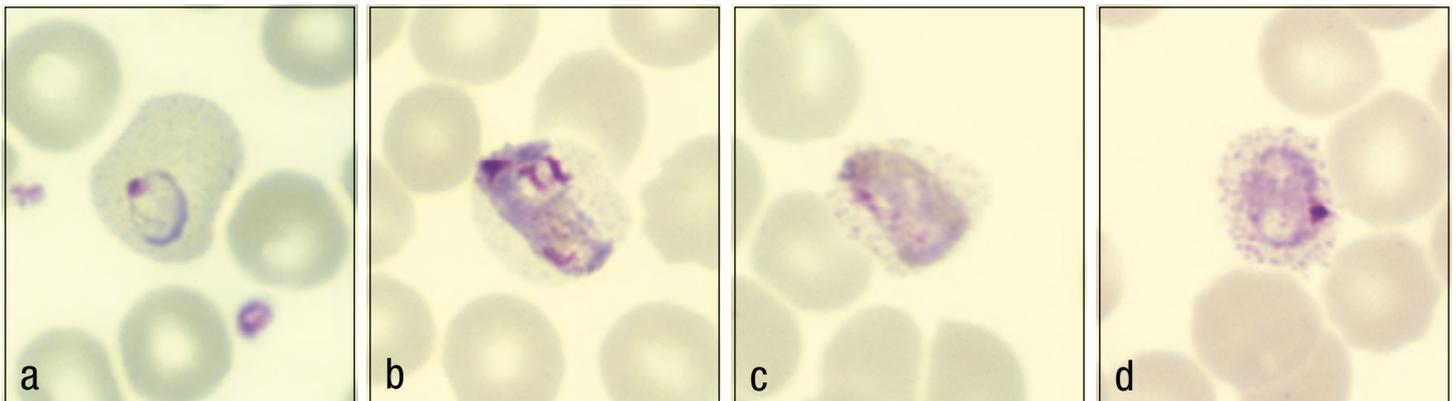
Efeito do pH na coloração

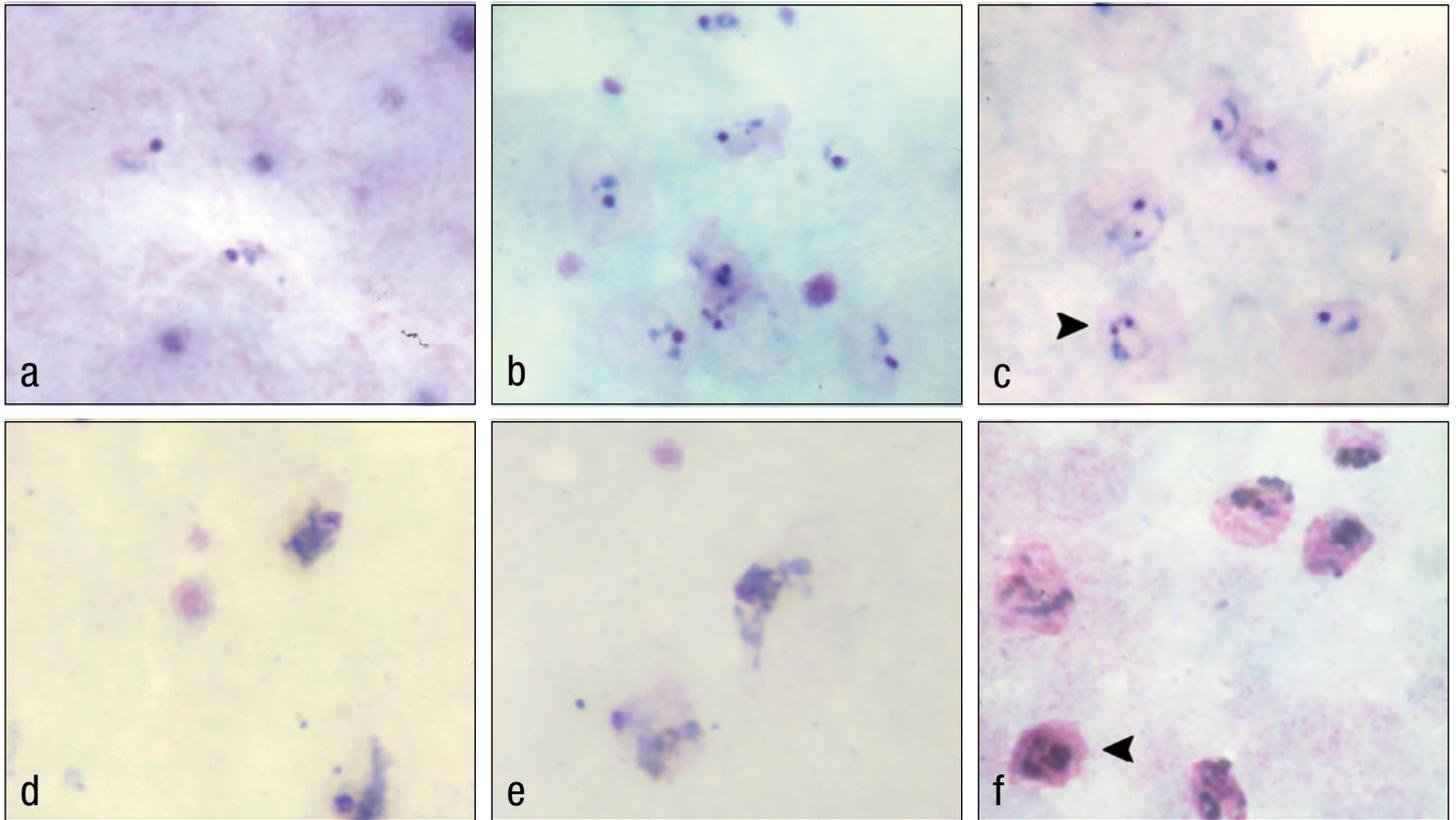
Para um diagnóstico consistentemente confiável por microscopia, a água usada para diluir o corante precisa ser tamponada (pH 7,2). A água deve ser deionizada ou destilada; a água da chuva é ácida demais, e a água de rio ou poço pode estar contaminada com bactérias e outros micro-organismos. Se for necessário usar água potencialmente contaminada, ela deve ser fervida, resfriada e filtrada. Essas precauções também se aplicam à água usada para remover o corante ao final do processo de coloração. Se a água usada para enxaguar as lâminas recém-coradas for ácida, ela removerá a coloração. Uma coloração perfeita pode ser estragada se, por exemplo, as delicadas granulações de Schüffner desaparecerem ao ser “enxaguadas” por água excessivamente ácida. É altamente recomendável que a água usada para enxaguar as lâminas coradas tenha um pH de 7,0 ou superior. Em regiões de água dura, com solo rico em calcário, a água da torneira costuma atingir o pH 7,2 e pode ser usada tranquilamente para enxaguar as lâminas.

O diagnóstico preciso do estágio e espécie do parasito é baseado em combinações de cores, formas, tamanho e presença de pigmentos e formas de parasitos na gota espessa ou, se necessário e o diagnóstico pela gota espessa for muito difícil, no esfregaço; quando a coloração se assemelha a uma foto em preto

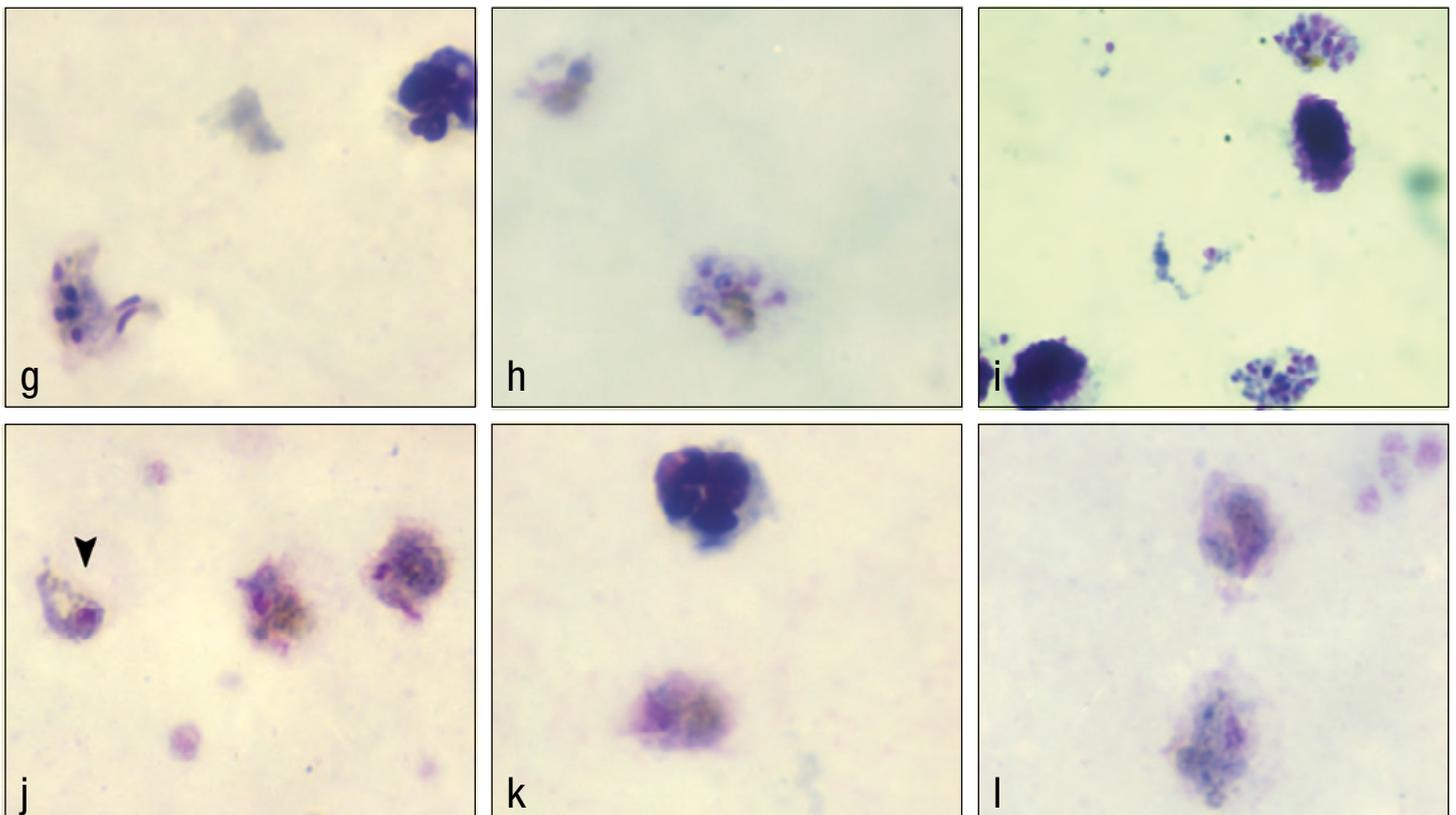
e branco (geralmente devido a um pH diferente do padrão de 7,2), cometem-se erros no diagnóstico.

As quatro fotomicrografias de *P. vivax* abaixo ilustram o efeito do pH na coloração por Giemsa de parasitos da malária e elementos do sangue. Em (a), observe a coloração acentuadamente azul-esverdeada das hemácias em pH 7,6. Há um trofozoítio reconhecível, mas a granulação de Schüffner no citoplasma das hemácias é muito tênue. Ao pH 7,4 (b), vê-se uma hemácia contendo um trofozoítio, com coloração azul-esverdeada; novamente, a granulação de Schüffner no citoplasma é pálida e pouco reconhecível. O pH da água tamponada usada para corar os parasitos em (c) foi aproximadamente 7,0: a cromatina e o citoplasma estão bem corados, com granulação de Schüffner claramente visível, facilitando o diagnóstico de *P. vivax* (principalmente quando se considera o aumento de tamanho das hemácias infectadas). Quando um esfregaço é obtido a partir de sangue anticoagulado, o pH do sangue pode ter sido alterado. Nesses casos, pode ser preciso ajustar o pH da água tamponada por um processo de tentativa e erro. No valor de pH ideal (7,2), as hemácias apresentam aspecto rosado, os trofozoítios ficam bem corados e as granulações de Schüffner são proeminentes (d).



***Plasmodium vivax* em gota espessa**

As formas em anel de *P. vivax* são geralmente maiores que as de *P. falciparum* (a-c; seta em c aponta uma cromatina dupla) e contêm “fantasmas” róseos de hemácias desmembradas (b e c). Os trofozoítos nesta espécie variam consideravelmente de tamanho e forma; quando a coloração é de boa qualidade, as granulações de Schüffner delimitam claramente a área ocupada por cada hemácia infectada (e e f). Na gota espessa, os parasitos às vezes adquirem uma coloração bastante densa, e certos estádios de *P. vivax* podem parecer surpreendentemente grandes (d e e). A presença de vários estádios num mesmo esfregaço geralmente indica infecção por *P. vivax*, mas o microscopista deve sempre permanecer alerta quanto a sinais de infecção mista.



Mesmo os esquizontes jovens (g, h) são maiores do que em outras espécies, enquanto os esquizontes maduros (i) finalmente contêm de 12 a 24 merozoítos. Os micro- (k) e macro- (l) gametócitos maduros apresentam as diferenças usuais na coloração, embora muitas vezes seja difícil para o microscopista diferenciar entre gametócitos jovens e trofozoítos maduros (j, seta). Porém, na microscopia de rotina da malária isso tem pouca importância.

Coloração dos parasitos da malária pelo método de Giemsa

A microscopia com coloração pelo método de Giemsa é o procedimento mais utilizado para demonstrar parasitos da malária em lâminas de sangue (gota espessa e esfregaço).

Resultados da coloração

Com algumas variações entre as espécies de plasmódio, a cromatina do parasito cora-se de um vermelho rubi muito forte, e o citoplasma de um azul claro a arroxeados; as granulações de Schüffner nas hemácias infectadas com *P. vivax* ou *P. ovale* surgem como pontos cor-de-rosa ou um “fantasma” róseo ao redor do parasito na gota espessa. Os núcleos dos leucócitos variam de quase negros a um roxo intenso, dependendo do tipo. O campo microscópico do esfregaço deve consistir de uma única camada de hemácias coradas de um rosa acinzentado muito claro. O campo microscópico ideal de uma gota espessa deve variar de branco translúcido a cinza claro, com cerca de 20 leucócitos por campo.

O corante necessário para a coloração de Giemsa está disponível como solução pré-preparada ou em pó de boa qualidade. O ideal é obtê-lo de um fabricante respeitável. Como a qualidade da produção varia, cada novo lote de solução estoque deve ser testado quanto à qualidade (usando lâminas sabidamente positivas como controle) antes da aceitação para uso na rotina do laboratório.

Preparo da solução estoque de corante Giemsa

- Medir 3,8 g de corante para Giemsa em pó, 250 mL de álcool metílico e 250 mL de glicerol.
- Colocar 50 esferas sólidas de vidro em um frasco de vidro seco e quimicamente limpo. Despejar o corante em pó e adicionar o álcool metílico.
- Fechar bem o frasco e agitar bem por 3-5 minutos.
- Adicionar o glicerol e agitar novamente. Repetir a agitação a cada 30 minutos, cerca de seis vezes.
- Ao longo dos próximos 2-3 dias, agitar o frasco três ou quatro vezes para que a solução fique bem homogênea.
- Esta é a solução estoque do corante. Decantar cerca de 25 mL para um frasco separado; esta será a solução usada na rotina do laboratório. Jamais devolva o corante não utilizado ao frasco de solução estoque.
- Rotular o frasco de solução estoque com a data do preparo e a pessoa responsável.

Teste cada novo lote de solução para determinar a diluição e o tempo de coloração ideais. Os frascos de solução estoque devem ser muito bem fechados e guardados ao abrigo da luz solar direta. Se só houver frascos de vidro transparente, devem ser cobertos com papel escuro.

Coloração de gota espessa e esfregaço na mesma lâmina

Há dois métodos de Giemsa usados na microscopia de rotina. O objetivo de cada método é o exame eficiente de uma gota espessa corada corretamente; o esfregaço é usado somente como rótulo e para identificação de estágio(s) e/ou espécie(s) quando não for possível estabelecer o diagnóstico por meio da gota espessa. Os dois métodos são:

o método rápido (10%), geralmente usado em ambulatórios e laboratórios movimentados; e

o método lento (3%), usado para corar um número maior de lâminas por vez para avaliação epidemiológica, ensino ou pesquisa.

Método rápido (10%)

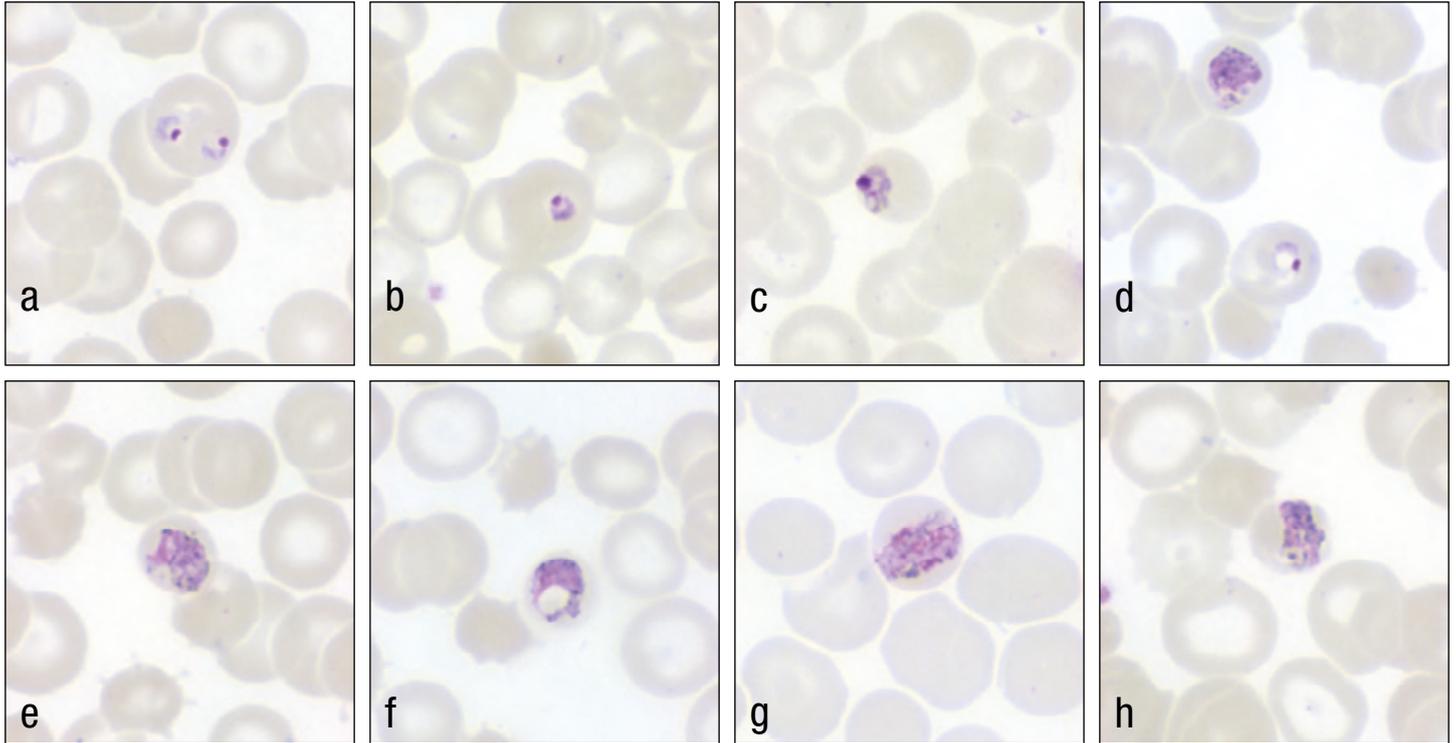
Adequado para laboratórios movimentados, onde é necessário um retorno rápido do resultado. Exige mais corante do que o método lento.

- Usando uma pipeta tipo Pasteur, cobrir o esfregaço com algumas gotas de álcool metílico para fixá-lo; deixar secar. Evitar expor a gota espessa ao álcool metílico ou aos seus vapores.
- Preparar uma solução de Giemsa a 10% em água tamponada a pH 7,2. Para pequenas quantidades, obtém-se a concentração correta com a proporção de três gotas de corante Giemsa para cada 1 mL de tampão.
- Com o sangue voltado para cima, derramar o corante delicadamente sobre a lâmina. Alternativamente, a lâmina pode ser colocada (com o sangue voltado para baixo) em uma cuba côncava de coloração, e o corante derramado delicadamente entre a lâmina e a cuba.
- Deixar corar por aproximadamente 10 min.
- Remover delicadamente o excesso de corante com água limpa, pingada gota a gota. Não verter o excesso de corante para fora da lâmina; isso deixa um depósito de espuma para trás, dificultando o exame.
- Colocar as lâminas para secar, com o lado do sangue voltado para baixo, em um rack ou suporte apropriado.

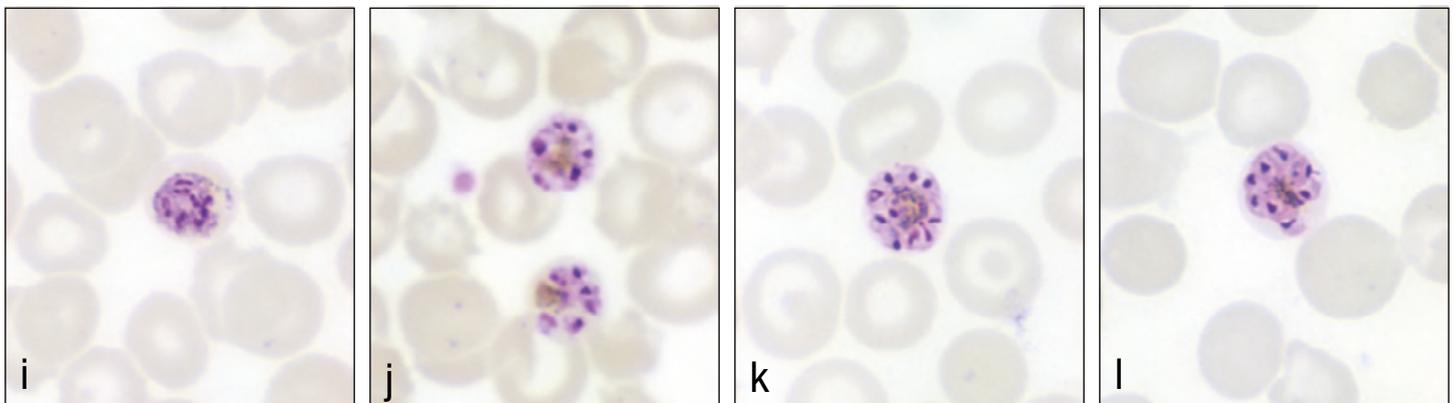
Método lento (3%)

Usado para corar 20 ou mais lâminas por vez. As lâminas com sangue são geralmente secas em estufa da noite para o dia, o que faz o sangue aderir melhor à lâmina, para que a coloração seja de melhor qualidade.

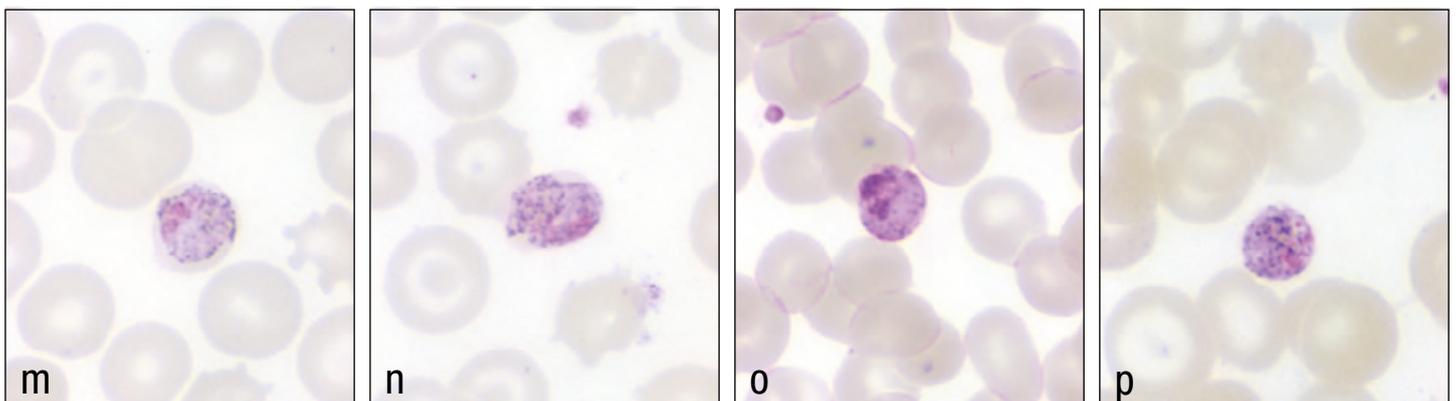
- Fixar os esfregaços com álcool metílico como de costume. Após a secagem, colocar as lâminas uma de costas para a outra em uma cuba de coloração, com os esfregaços em uma extremidade da cuba e as gotas espessas na outra.
- Preparar uma solução de Giemsa a 3% em água tamponada a pH 7,2: adicionar 3 mL de corante a 97 mL de tampão em uma proveta graduada. Misturar bem.
- Verter o corante na cuba, diretamente sobre os esfregaços, certificando-se de que o corante cubra as lâminas. Manter ao abrigo do sol.
- Deixar corar por 45-60 min (a gota espessa sofre desemo-globinização rapidamente neste processo).
- Agindo com rapidez, verter água limpa delicadamente na extremidade da cuba onde estão os esfregaços, removendo assim a espuma brilhante esverdeada. Continuar adicionando água até que o corante tenha sido completamente substituído por água limpa. Drenar cuidadosamente a água.
- Remover cuidadosamente as lâminas e deixar secar, com o lado do sangue voltado para baixo, em um rack ou suporte apropriado. Certificar-se sempre de que o sangue não raspe nas bordas do rack ou suporte, o que poderia retirá-lo da lâmina.

Plasmodium malariae em esfregaço

Trofozoítos. *P. malariae* ocupando hemácias maduras. As formas de anel são mais distintas do que em outras espécies, e o citoplasma é mais compacto e cora-se de azul mais escuro; os grânulos de pigmento malárico castanho-escuro a preto também surgem em trofozoítos mais jovens (**d, e**). Não há aumento de tamanho das hemácias. Algumas formas típicas são o “olho de pássaro”, no qual a cromatina está localizada no centro do vacúolo; a “cesta” (**f**); e as formas em “banda” ou “faixa” (**g, h**), consideradas características da espécie. A coloração de Giemsa não demonstra granulações de Ziemann a menos que o tempo de coloração tenha sido consideravelmente prolongado, e mesmo assim somente nas maiores formas tipo anel. Os trofozoítos maduros praticamente preenchem as hemácias infectadas.



Esquizontes. Os esquizontes jovens apresentam poucas divisões de cromatina (**i**), mas os esquizontes maduros têm de 8 a 12 merozoítos, dispostos caracteristicamente em uma formação de “rosácea” ou “roseta” em torno de uma massa de pigmento castanho-escuro (**k**). Os esquizontes geralmente preenchem a hemácia. O pigmento também pode ser visualizado como uma massa na periferia do parasito (**j, l**).



Gametócitos. Como nas infecções por *P. vivax* e *P. ovale*, a diferenciação entre trofozoítos maduros e gametócitos é frequentemente difícil. Os macrogametócitos (**m, n**) têm citoplasma azul claro com uma massa de cromatina avermelhada que é mais compacta do que a dos microgametócitos (**p, o**). O pigmento malárico preto ou castanho-escuro encontra-se espalhado pelo citoplasma de todos os gametócitos (**m-p**), e pode dar a impressão de que o citoplasma se cora de um azul mais escuro do que nas outras três espécies.

Plasmodium falciparum

P. falciparum é a mais importante das quatro espécies humanas de parasito da malária, e está amplamente distribuído na África e Ásia tropical e subtropical. Na África Subsaariana é responsável por quase todos os casos registrados de malária, inclusive de infecções mistas. Juntamente com o sarampo, a desnutrição, as diarreias e as pneumonias, é responsável pela maioria das mortes de crianças menores de 5 anos. Em áreas onde a malária é altamente endêmica, ela comumente cursa com anemia grave e é uma causa importante de morte fetal. Em áreas de baixa transmissão, pessoas de todas as idades estão em risco, e os surtos de malária por *P. falciparum* matam aos milhares. Quando a imunidade à malária é baixa, a infecção pode se instalar rapidamente na forma aguda, causando graves lesões no cérebro e em outros órgãos. A malária cerebral é caracterizada por coma e frequentemente leva ao óbito; alguns pacientes que se recuperam têm sequelas para o resto da vida. Como *P. falciparum* não forma hipnozoítos, existe apenas uma geração de esquizogonia tecidual (exoeritrocítica). A recaída pode ocorrer até 18 a 24 meses após a primoinfecção, mas isso é difícil de monitorar em áreas onde a transmissão é constante.

Muitas formas jovens em anel geralmente são observadas na gota espessa; em infecções mais antigas, há gametócitos presentes. Nesta espécie, os trofozoítos maduros e os esquizontes permanecem sequestrados profundamente nos órgãos vitais, e raramente são vistos. A presença dos esquizontes característicos nas lâminas de sangue periférico geralmente indica uma urgência médica. O pigmento malárico pode ser visualizado no citoplasma de fagócitos que ingeriram células parasitadas. Ocasionalmente, apenas gametócitos são visualizados em pacientes assintomáticos, mas estes permanecem suscetíveis à infecção pelo mosquito vetor.

A presença de grande número de formas em anel—e somente elas—é fortemente indicativa de infecção por *P. falciparum*. Quando apenas algumas formas em anel estão presentes, a identificação da espécie pode ser difícil. No esfregaço, a observação de formas “accolé” ou “applique” na borda da hemácia, as infecções múltiplas de hemácias e a presença de muitos anéis pequenos com um grânulo duplo de cromatina favorecem o diagnóstico de malária por *P. falciparum*.

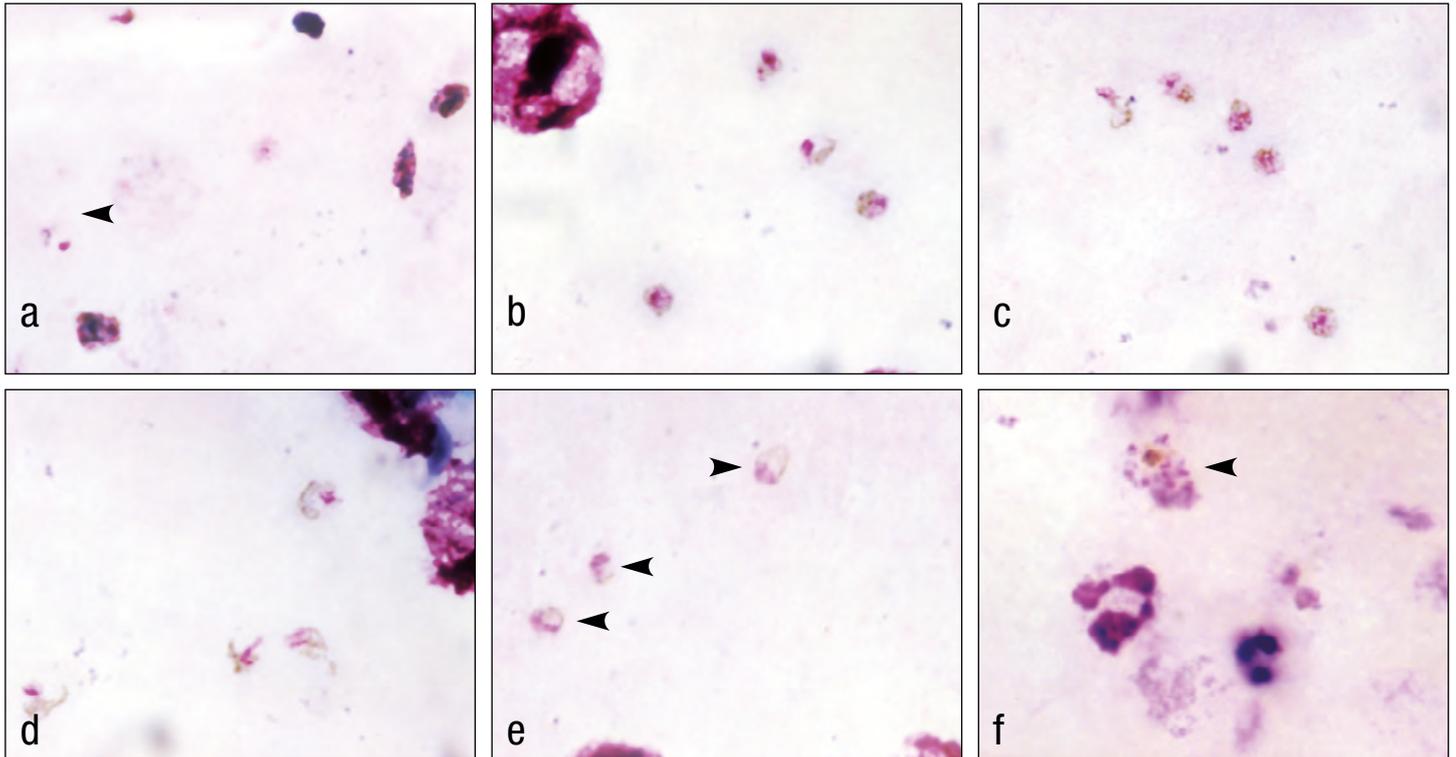
Plasmodium vivax

Esta espécie ocorre nos trópicos e subtropicais e em algumas áreas temperadas. Contribui de maneira importante para a perpetuação da pobreza, causando milhões de dias de trabalho e escola perdidos. Raramente cursa com risco de morte. Na África ocidental e central, é rara, pois existem muitos indivíduos antígeno Duffy-negativos, que parecem ser resistentes a *P. vivax*. Nessas áreas geográficas, clínicos e laboratoristas que observarem infecção semelhante à por *P. vivax* devem descartar a possibilidade de infecção por *P. ovale* antes de firmar o diagnóstico.

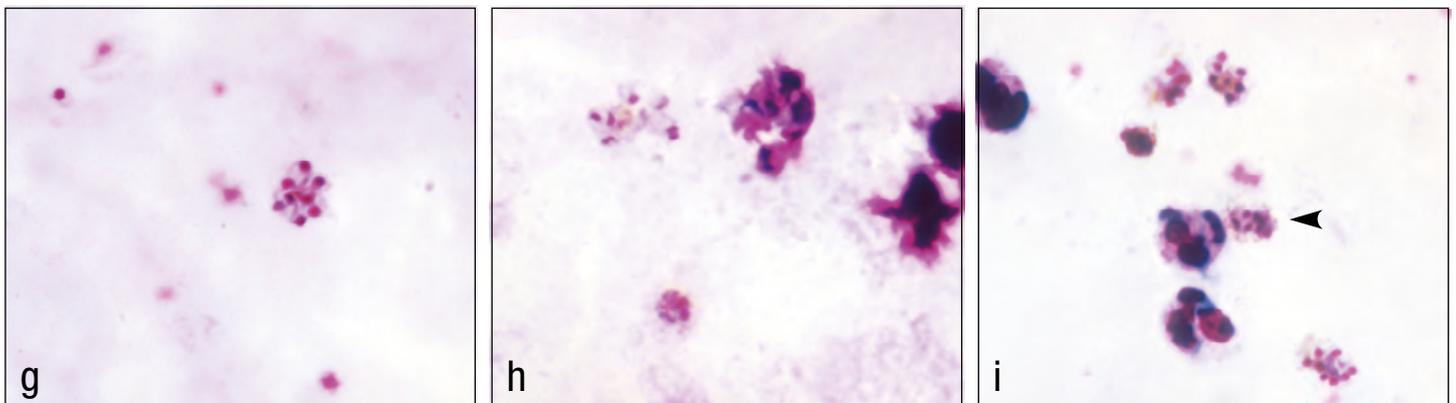
O período de incubação é de 13 a 17 dias. Em algumas cepas, pode levar até 6 ou 12 meses, embora tal latência seja difícil de demonstrar em condições tropicais. Uma característica importante dessa espécie é a presença e persistência no fígado do estágio exoeritrocítico conhecido como “hipnozoíto”, que resulta em recaídas ao longo de vários meses e até anos.

O ciclo eritrocítico dura de cerca de 48 h. Não é incomum encontrar trofozoítos, esquizontes e gametócitos em um mesmo esfregaço de sangue periférico.

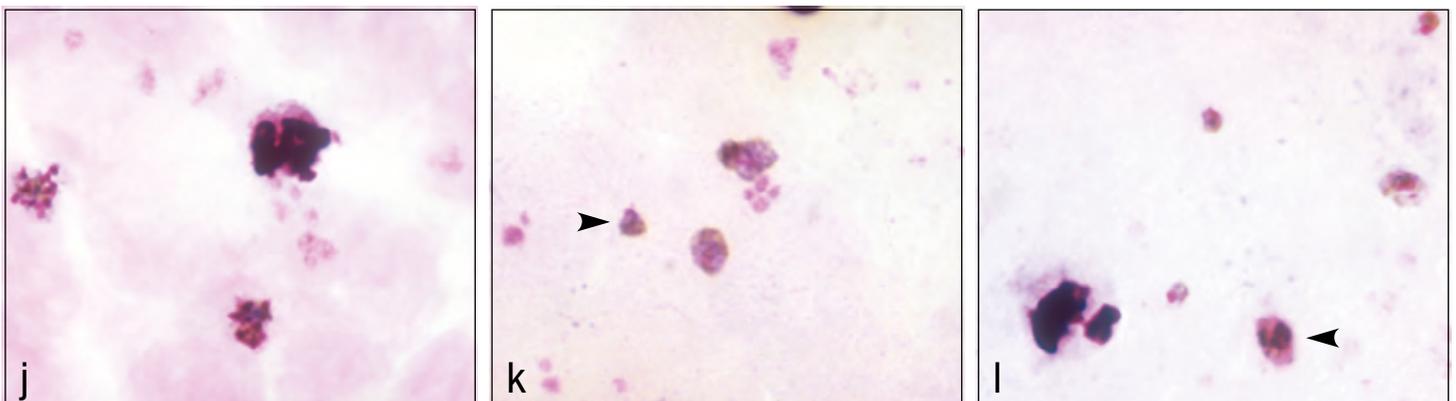
O diagnóstico é difícil quando apenas algumas formas em anel são visualizadas na lâmina; nestes casos, pode ser necessário prolongar o exame para detectar outros estádios e buscar evidências de granulações de Schüffner nas hemácias aumentadas e infectadas. O exame de rotina da gota espessa geralmente revela vários diferentes estádios. O exame cuidadoso da borda de uma gota espessa geralmente mostra parasitos cercados pelo “fantasma” rosado das hemácias do paciente, bem como outros sinais de granulação.

Plasmodium malariae em gota espessa

Trofozoítos. Os trofozoítos são pequenos, com citoplasma compacto, às vezes em forma de anel incompleto ou sem vacúolo (a–c), e geralmente têm um só grande ponto de cromatina. Trofozoítos pequenos e maiores são visíveis no mesmo campo (e). Grânulos de pigmento malárico, castanho-escuro ou negro, se formam no início da fase de trofozoito e fazem com que o citoplasma (que normalmente já se cora de azul) adquira uma coloração azul ainda mais escura. Todos os estádios estão presentes, mas pode haver poucos trofozoítos (f, esquizonte e trofozoítos).



Esquizontes. As fotomicrografias de g–i mostram esquizontes maduros, cada qual com oito merozoítos; em h, parece que os merozoítos estão prontos para começarem a se separar, mas a condição dos leucócitos sugere que a amostra de sangue ficou parada por muito tempo, o que afetou a morfologia. A coloração azulada do fundo do campo pode conferir um tom acinzentado à lâmina como um todo, dificultando o reconhecimento de alguns parasitos.



Gametócitos. Embora todos os estádios de desenvolvimento estejam geralmente presentes no esfregaço, mesmo com baixa densidade parasitária, o reconhecimento dos estádios pode ser difícil. A fotomicrografia k mostra dois gametócitos maiores que o trofozoito (seta). Há um único gametócito visível (l, seta), com anéis pequenos e trofozoítos em crescimento. Assim como em *P. vivax* e *P. ovale*, às vezes é difícil distinguir entre trofozoítos maduros e gametócitos.

Exame de rotina do esfregaço sanguíneo para pesquisa do parasito da malária

Exame da gota espessa

Como rotina, examina-se somente a gota espessa. Se foi obtida e corada corretamente, não deve haver grandes problemas na identificação dos estádios e espécies.

Procedimento

- Colocar a lâmina sobre a platina e posicionar a gota espessa sob a objetiva 10x (marcada com “X” na Figura 1).
- Pingar uma gota de óleo de imersão na lâmina e ajustar o foco até confirmar que está sobre a parte correta da lâmina.
- Mudar para a objetiva de imersão em óleo 100x. Mover a objetiva para baixo até que a lente esteja em contato com o óleo. Ajustar o foco e confirmar que a parte mais apropriada do filme (com 15 a 20 leucócitos por campo) foi selecionada.
- Seguindo a sequência apresentada no diagrama, examinar no mínimo 100 campos antes de declarar que a lâmina deu negativo. Se houver dúvida acerca da(s) espécie(s) de plasmodio presente(s), examinar mais 100 campos para confirmar ou descartar uma possível infecção mista.
- Os movimentos devem ser suaves sob risco de quebrar a lâmina na objetiva de 100x.

Um contador manual ajudará na contagem dos campos examinados. Um microscopista experiente demora cerca de 10 minutos para examinar 100 campos de imersão em óleo.

Exame do esfregaço

Leva muito mais tempo para examinar uma quantidade equivalente de sangue em um esfregaço do que em uma gota espessa. A única vantagem de examinar o esfregaço é que é mais fácil para um microscopista inexperiente identificar a morfologia do parasito.

Procedimento

- Assim como no exame da gota espessa, aplicar uma gota de óleo de imersão na lâmina (“X” na Figura 1).
- Primeiro, usando a objetiva 10x e, em seguida, a objetiva de imersão em óleo 100x, confirmar se a parte da lâmina selecionada é apropriada. Examinar conforme a sequência mostrada na Figura 2.

Figura 1. Exame da gota espessa

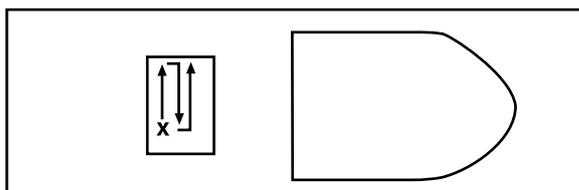
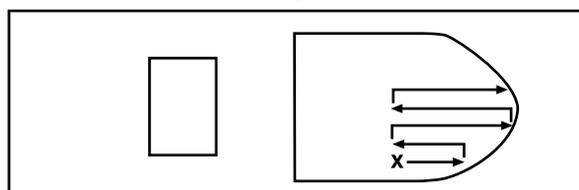


Figura 2. Exame do esfregaço



Avaliação quantitativa (contagem de parasitos) na gota espessa

- A determinação da densidade de parasitos em um caso de malária pode ser necessária para:
 - estabelecer e monitorar a gravidade da infecção e a resposta do paciente ao tratamento; e
 - testar a eficácia terapêutica de medicamentos antimaláricos.
- Obs.: Essas etapas só devem ser realizadas após a conclusão do exame, com o diagnóstico já estabelecido.**
- Equipamento adicional necessário:
 - dois contadores manuais;
 - calculadora eletrônica;
 - temporizador (timer/cronômetro) para laboratório.

O procedimento padrão é contar todas as formas assexuadas. Se for necessário obter contagens dos gametócitos de *P. falciparum*, essas devem ser realizadas e registradas separadamente.

Método 1

- Selecionar a melhor parte da lâmina (vide Prancha 4b). Campo a campo, contar o número de parasitos visualizados em um contador e o número de leucócitos no outro.
- A contagem de parasitos por microlitro é determinada pela enumeração do número de parasitos em relação a um número padrão de leucócitos (8000). Quando for preciso um alto grau de precisão, deve-se obter a contagem real (absoluta) de leucócitos e usá-la para calcular a densidade do parasito.
- Se, após a contagem de 200 leucócitos, forem encontrados 100 ou mais parasitos, interrompe-se a contagem e registra-se o resultado na ficha em termos de número de parasitos por 200 leucócitos. Se, após a contagem de 200 leucócitos, o número de parasitos for 99 ou menos, a contagem deve continuar até 500 leucócitos.
- Com a contagem terminada, pode-se calcular o número de parasitos em relação aos leucócitos contados pode ser calculado e expressar o resultado em parasitos por microlitro de sangue, a partir da fórmula:

$$\frac{\text{Parasitos contados} \times 8000}{\text{N}^\circ \text{ de leucócitos}} = \text{parasitos}/\mu\text{L de sangue}$$

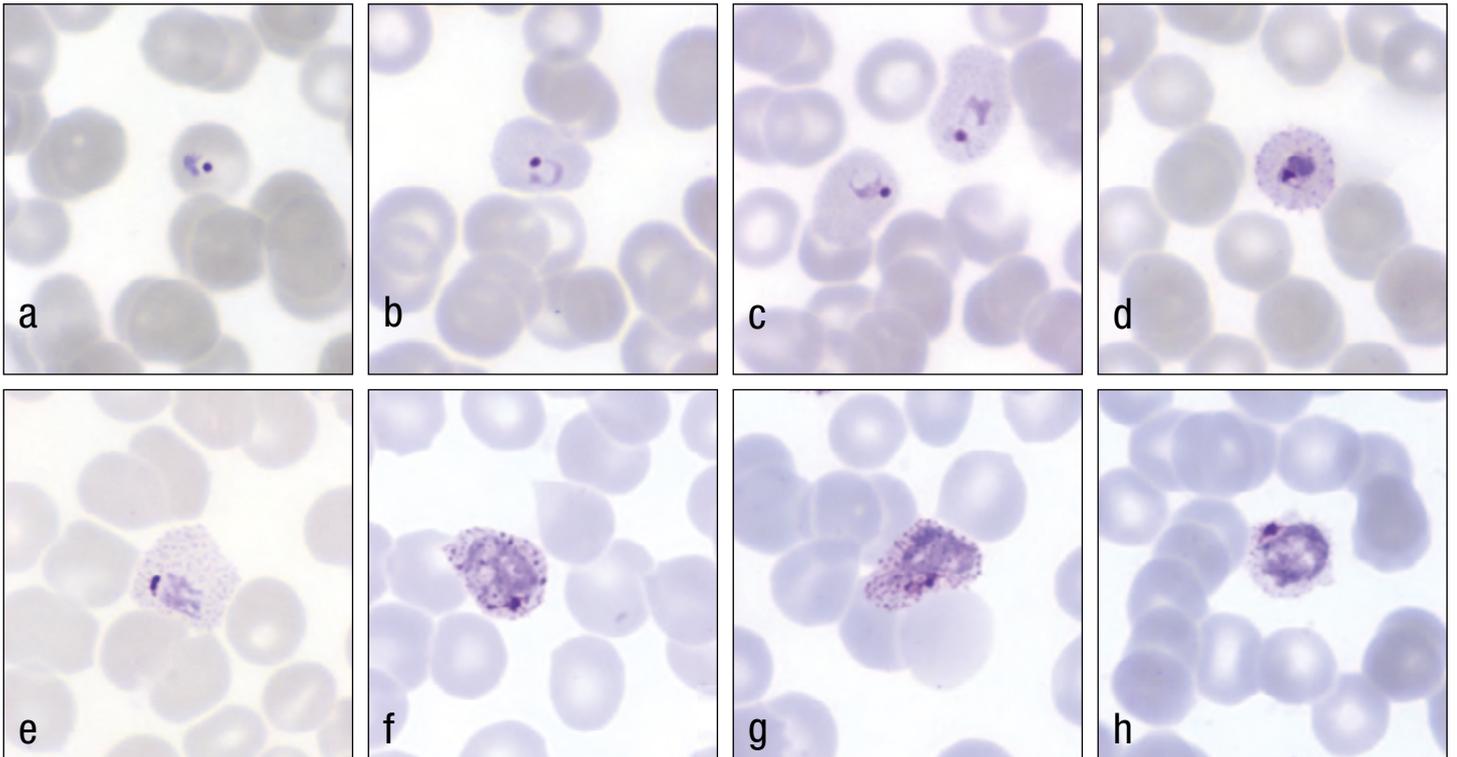
No procedimento padrão, contam-se apenas as formas assexuadas.

Método 2

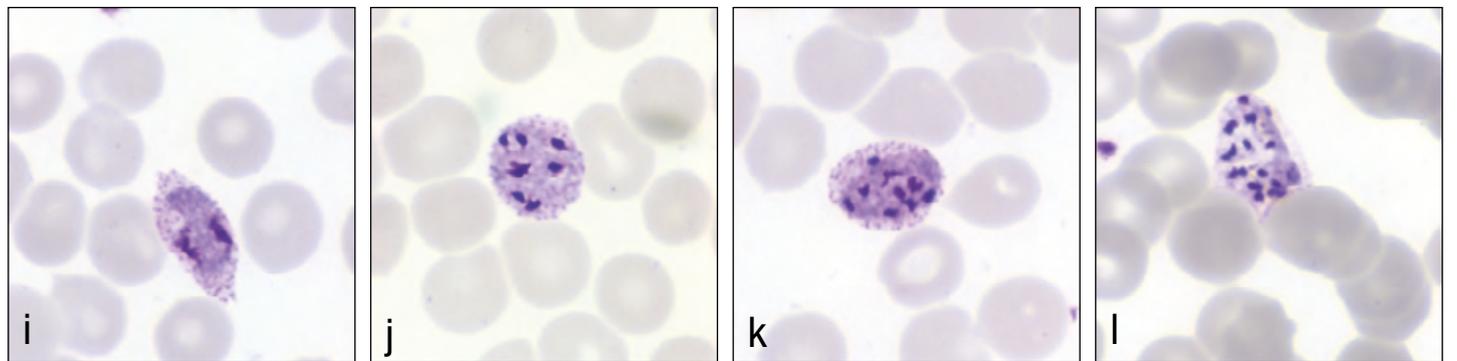
Este método é considerado obsoleto pela maioria dos autores, devido à sua pouca confiabilidade. Deve ser usado apenas quando for impossível usar o método 1.

O sistema é baseado em uma escala de cruzes, aplicada da seguinte maneira:

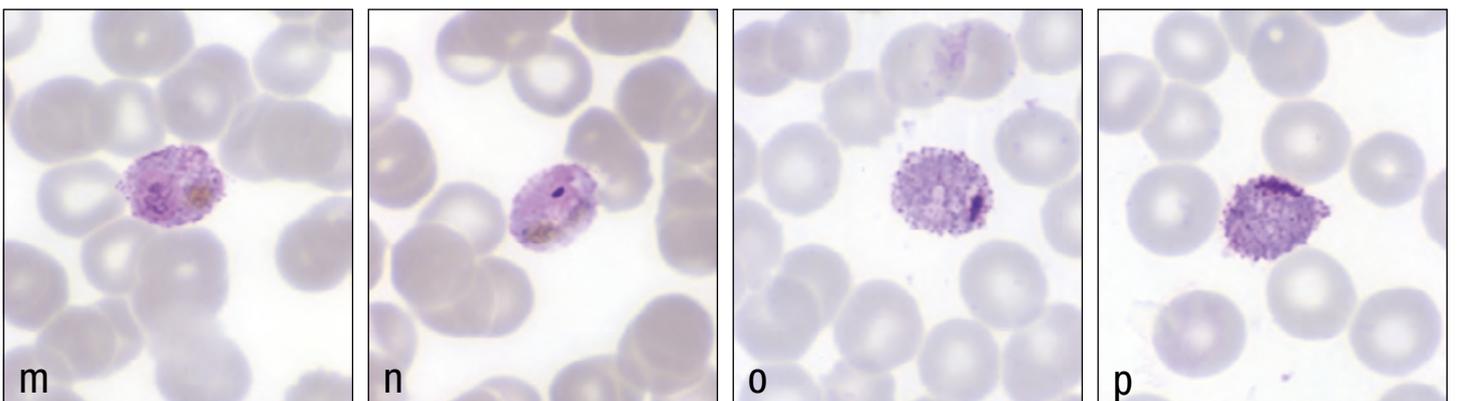
- + = 1–10 parasitos por 100 campos da gota espessa;
- ++ = 11–100 parasitos por 1000 campos da gota espessa;
- +++ = 1–10 parasitos em 1 campo da gota espessa;
- ++++ = 11 ou mais parasitos em 1 campo da gota espessa.

Plasmodium ovale em esfregaço delgado

Trofozoítos. Assim como *P. vivax*, *P. ovale* prefere as hemácias jovens, e os trofozoítos iniciais são praticamente indistinguíveis dos de outras espécies (**a, b**); porém, isso muda rapidamente com o aumento de tamanho das células e o surgimento de granulações (**c–e**). A forma ovalada do *P. ovale*, que dá nome à espécie, pode ocorrer bastante cedo nos trofozoítos, mas se deve em grande parte às condições do esfregaço sanguíneo. A descrição de *P. ovale* como “um parasito com aspecto de *malariae* em hemácias com aspecto de *vivax*” é útil (**vide d–g, i, j**), embora o aumento modesto de tamanho das hemácias na infecção por *P. ovale* raramente se destaca. Os parasitos têm uma cromatina densa, com menos formas ameboides (**f**). Frequentemente, a fimbriação das hemácias é um fator decisivo para o diagnóstico (**h, i**).



Esquizontes. Os esquizontes são facilmente reconhecidos pela clareza da coloração e separação entre os merozoítos, pelo modesto aumento de tamanho celular, pelas formas frequentes de *P. ovale* e pela granulação de Schüffner (**i–k, l**). O número de merozoítos é de 6 e 12, podendo chegar a 18. O pigmento malárico se acumula em pequenos aglomerados no centro da massa do esquizonte.



Gametócitos. As diferenças entre os macro- e microgametócitos são semelhantes às observadas em *P. vivax* e *P. malariae* (**m–p**). O gametócito preenche a hemácia aumentada, e as margens irregulares demonstram claramente a granulação de Schüffner (**o, p**). O pigmento está presente como grânulos castanhos espalhados por todo o citoplasma, que mais tarde se unem para formar uma massa castanha-escura com tom esverdeado. Em esfregaços bem feitos e bem corados, a granulação de Schüffner se apresenta claramente como grânulos rosados em forma de miçanga.

Coloração rápida de esfregaços sanguíneos para detecção do parasito da malária

A microscopia com coloração pelo método de Giemsa é considerada o padrão-ouro para diagnóstico da malária, mas os testes rápidos também podem ser úteis quando é preciso examinar uma gota espessa com urgência. A maior parte dos corantes rápidos são à base d'água e, em condições tropicais, apresentam tendência ao crescimento de fungos. A filtragem periódica ajuda a evitar isso. A coloração geralmente é bastante satisfatória, e muitos laboratórios usam testes rápidos como rotina. O método descrito aqui é o da coloração de Field, mas outras técnicas, como JSB e Wright, são apresentadas na seção “Leitura adicional” da Prancha 12b.

Preparo de soluções estoque para coloração de Field

Estas soluções são usadas para a detecção rápida de parasitos da malária em gota espessa. O citoplasma cora-se de azul, e a cromatina de vermelho; as granulações de Schüffner nem sempre se coram claramente, e a qualidade da coloração pode variar ao longo da lâmina, devido em parte à espessura variável do esfregaço. O procedimento utiliza as soluções de Field A e B, que podem ser preparadas a partir de pós prontos disponíveis no comércio.

Solução estoque de Field A:

- Adicionar 5,9 g de corante em pó Field A a 600 mL de água destilada a 60°C.
- Misturar até dissolver.
- Aguardar esfriar. Filtrar a solução.

Solução estoque de Field B:

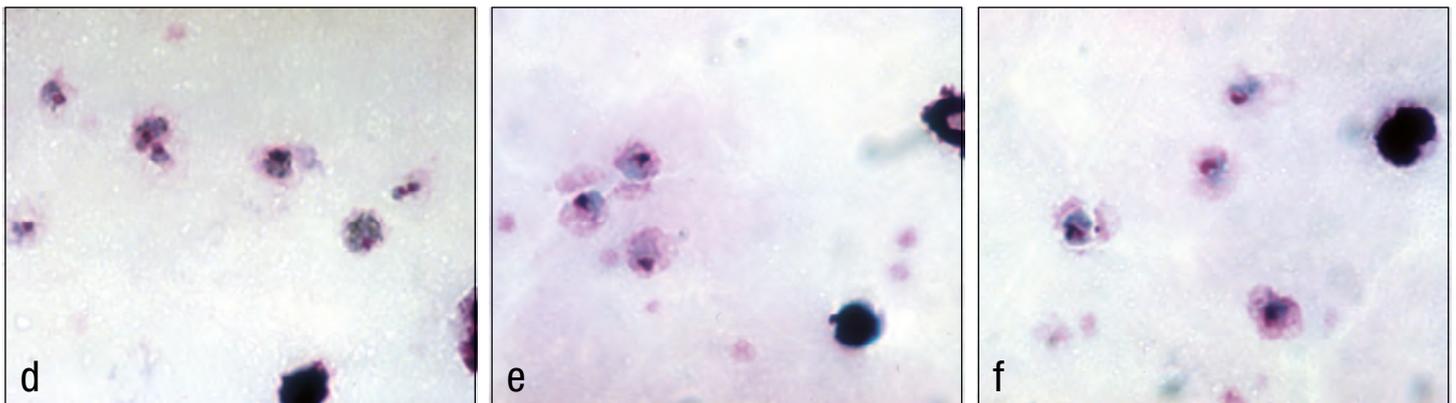
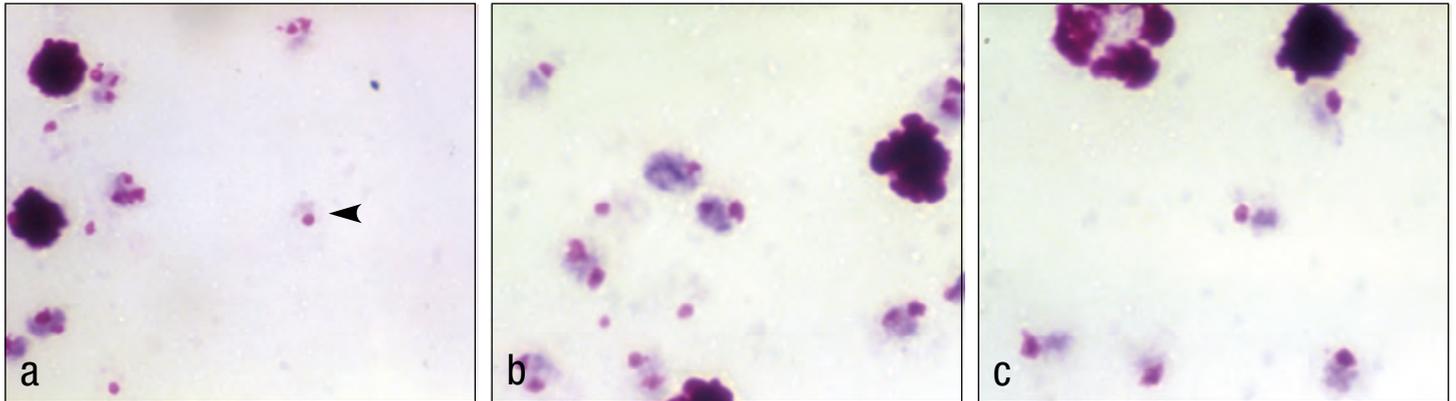
- Adicione 4,8 g de corante em pó Field B a 600 mL de água destilada a 60°C.
- Misturar até dissolver.
- Aguardar esfriar. Filtrar a solução.

Coloração de gota espessa pelo método de Field

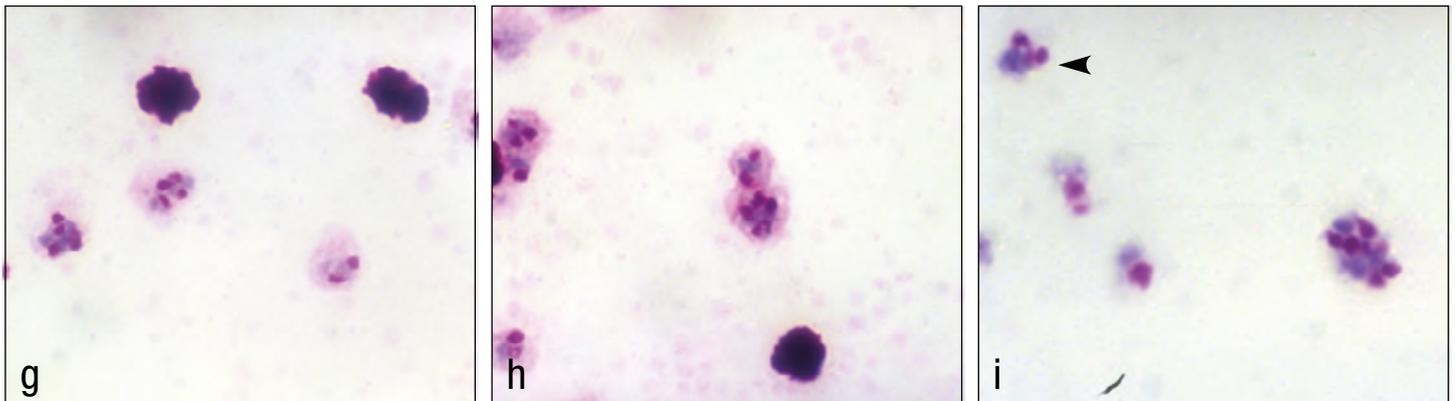
- Não fixar jamais lâminas de gota espessa.
- Mergulhar a lâmina por 4 segundos em uma cuba de Coplin contendo solução de Field A.
- Enxaguar delicadamente em água limpa por 5 segundos.
- Mergulhar a lâmina por 4 segundos na solução de Field B.
- Enxaguar delicadamente em água limpa por 5 segundos.
- Secar ao ar ambiente em rack ou suporte para secagem de lâmina.

Coloração de esfregaço delgado pelo método de Field

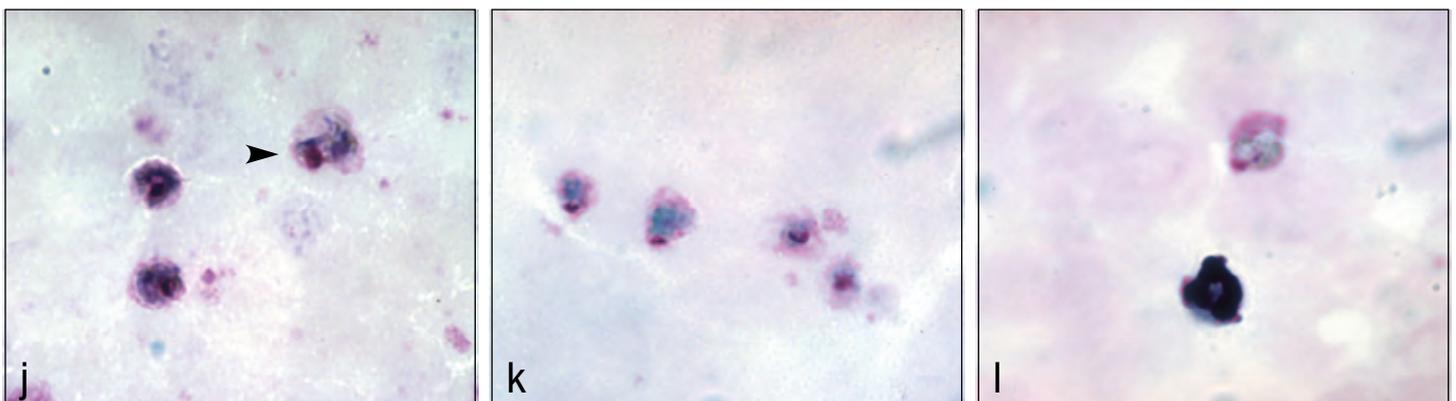
- Fixar a lâmina em álcool metílico por 1 min.
- Enxaguar em água limpa.
- Cobrir a lâmina com solução de Field B diluída (1 volume de solução estoque em 4 volumes de água tamponada a pH 7,2).
- Adicionar imediatamente igual volume de solução de Field A e agitar a lâmina para misturar bem.
- Deixar corar por 1 min.
- Remover a solução remanescente lavando em água limpa.
- Secar ao ar ambiente em rack ou suporte para secagem de lâmina.

***Plasmodium ovale* em gota espessa**

Trofozoítos. As formas em anel são semelhantes às de *P. vivax*, com um “ponto” de cromatina proeminente e uma massa de citoplasma azul que varia de tamanho conforme a idade do trofozoítos (a, seta indicando um trofozoítos jovem); os trofozoítos mais maduros podem ser amebóides (e, f), com granulações de Schüffner visíveis como um halo rosado ao redor do parasito (d–h). Geralmente, todos os estágios são visualizados no esfregaço, embora os esquizontes possam estar em menor número.



Esquizontes. Pode haver poucos esquizontes, de tamanho semelhante aos de *P. malariae*. Trofozoítos jovens (i, seta) são visualizados no mesmo campo que esquizontes maduros, neste caso provavelmente por terem se separado de um esquizonte maduro. Há 6–12 merozoítos, e o pigmento é visualizado como uma massa acastanhada (h) de localização central.



Gametócitos. Essas formas podem ser difíceis de diferenciar dos trofozoítos maduros, e têm tamanho semelhante aos de *P. vivax* (k: dois gametócitos à esquerda, dois trofozoítos à direita). O pigmento geralmente é castanho, grosseiro e distribuído uniformemente por todo o corpo do parasito (j).

Plasmodium malariae

A distribuição global desta espécie é ampla, porém irregular, em áreas tropicais e subtropicais, com prevalência mais baixa que a de *P. falciparum* e *P. vivax*.

O período de incubação é longo, variando de 23 a 69 dias, e o desenvolvimento é lento tanto no hospedeiro humano quanto no vetor anofelino. Não há indícios de que ocorra o estágio de hipnozoíto; porém, embora esta espécie passe por somente um ciclo de esquizogonia exoeritrocítica, é a mais longa das quatro. Já foram registradas infecções que persistiram por mais de 50 anos após a primoinfecção. Na ausência de hipnozoítos, pouquíssimos parasitos assexuais persistem nos tecidos profundos do organismo; a recaída sobrevém quando as condições são favoráveis. Em algumas partes tropicais da África Oriental e Ocidental, América Central e Pacífico (Papua Nova Guiné), acessos crônicos e repetidos de malária por *P. malariae* em crianças menores de 15 anos são considerados responsáveis por síndrome nefrótica, uma grave nefropatia com prognóstico ruim.

O ciclo eritrocítico dura 72 h. Infecções mistas com *P. malariae* e outra (ou outras) espécies são bastante comuns. Todos os estádios do parasito são visualizados no esfregaço de sangue periférico, embora a densidade parasitária possa ser baixa. As hemácias infectadas não aumentam de tamanho. A demonstração de granulações de Ziemann—pontos rosados peculiares a

esta espécie—requer coloração prolongada ou especial, e seu valor diagnóstico é considerado limitado.

O parasito é pequeno e o citoplasma cora-se de azul escuro, às vezes quase preto, muitas vezes parecendo ainda mais escuro devido à presença precoce de grânulos dispersos de pigmento castanho-escuro a preto. A cromatina cora-se de um vermelho rubi profundo. No esfregaço, geralmente se visualiza a forma de “banda” ou “faixa”, o que distingue esta espécie das outras. Porém, formas semelhantes são visualizadas eventualmente em esfregaços de *P. vivax* e *P. ovale*. Alguns autores apontam a aparente ausência dessa forma na gota espessa, sugerindo que é um artefato criado durante a confecção do esfregaço. De qualquer maneira, o diagnóstico da espécie em gota espessa não é difícil. Deve-se tomar cuidado para não confundir uma infecção por *P. ovale* sem granulações de Schüffner com uma infecção por *P. malariae* com coloração típica. Tanto no esfregaço como na gota espessa, o esquizonte maduro de *P. malariae*, muito conhecido como “rosácea” devido ao seu formato característico de flor e ao pequeno número (8–12) de merozoítos, é único a esta espécie. Alguns casos identificados microscopicamente como *P. malariae* em partes isoladas do sudeste da Ásia foram recentemente reclassificados por reação em cadeia da polimerase (PCR) como *P. knowlesi*, um parasito natural de primatas do gênero *Macaca*. Acredita-se que os casos de infecção humana ocorram apenas raramente, após pernoitar desprotegido em áreas de floresta.

Plasmodium ovale

A distribuição global de *P. ovale* parece ser mais limitada do que a das outras três espécies. É encontrado principalmente na África tropical, onde *P. vivax* é menos comum. Porém, já houve registros de *P. ovale* na China, Papua Nova Guiné, Filipinas, Tailândia e Vietnã, além de relatos isolados na Malásia e em Vanuatu. Como os microscopistas menos experientes provavelmente confundem *P. ovale* com *P. vivax*, a distribuição pode ser mais ampla do que se crê atualmente. Assim como *P. vivax*, *P. ovale* possui um período de incubação de 16 a 18 dias, ciclo assexual de cerca de 50 h e estádios persistentes do hipnozoíto exoeritrocítico no fígado, o que resulta em recaídas periódicas.

Todos os estádios podem estar presentes nos esfregaços de sangue periférico. As hemácias normalmente se apresentam aumentadas, mas o aumento é menor do que em casos de *P. vivax*. As granulações de Schüffner (ou de James) aparecem mais cedo nos trofozoítos jovens do que em *P. vivax*; os grânulos rosados

são mais proeminentes, com aspecto de miçangas, às vezes quase mascarando o parasito.

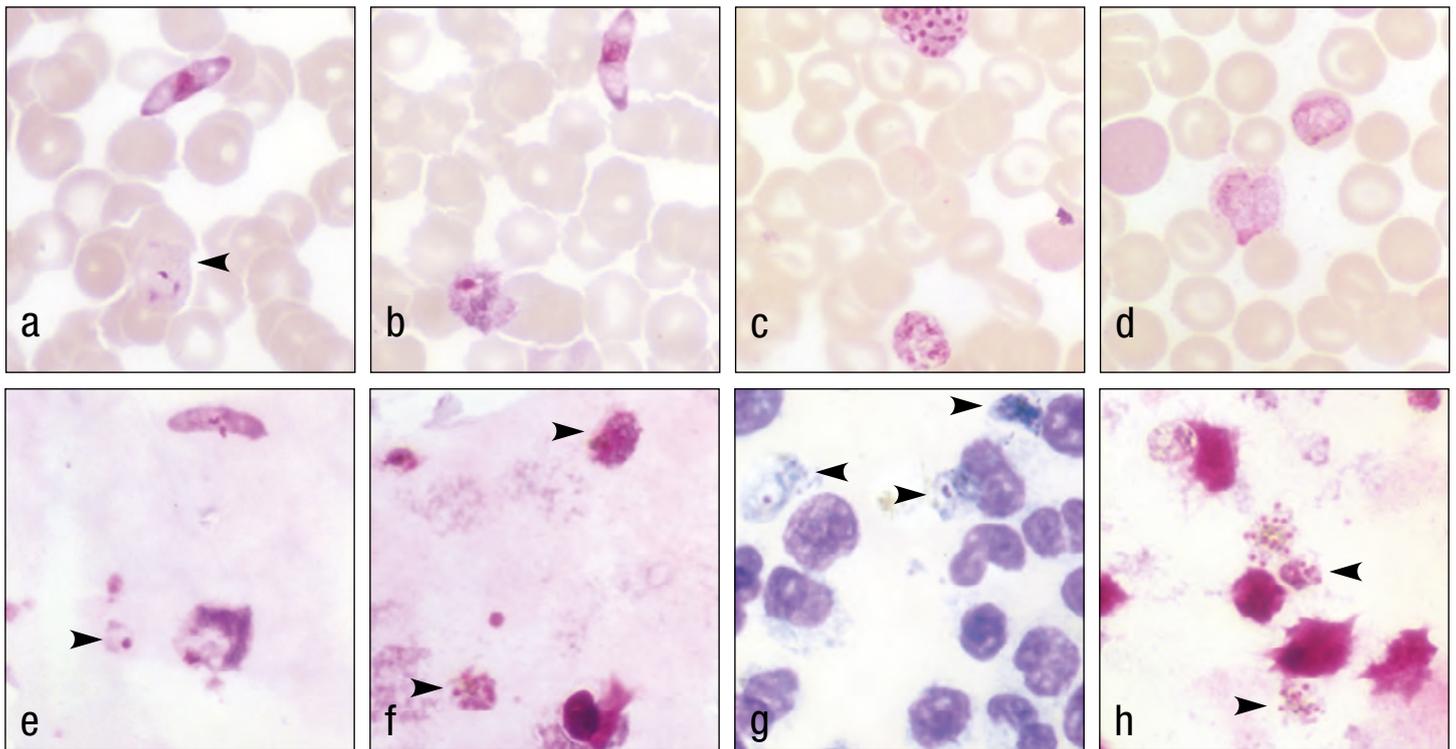
Com frequência, esta espécie é descrita como “um parasito com aspecto de *malariae* em hemácias com aspecto de *vivax*” e é a mais difícil de identificar, devido às semelhanças morfológicas com *P. malariae* e *P. vivax*. Podem ser visualizadas hemácias infectadas ovaladas ou alongadas no esfregaço. Este achado pode ser considerado decisivo para o diagnóstico; no entanto, sabe-se que este fenômeno também ocorre nas infecções por *P. vivax*, embora com menos frequência. O número de formas ovais é maior quando o esfregaço é confeccionado em um ambiente com baixa umidade. Uma ajuda valiosa para o diagnóstico pode vir da anamnese: sabe-se que *P. ovale* persiste em algumas comunidades pequenas e isoladas, assim como *P. malariae*, e deve-se tomar cuidado antes de estabelecer o diagnóstico final. *P. ovale* ocorre comumente em infecções mistas.

Infecções mistas

A infecção por mais de uma espécie malárica deve ser esperada a qualquer momento, mesmo em áreas onde a malária é incomum. Tendo essa atitude, os microscopistas estarão melhor preparados para reconhecer as diferenças entre estádios e entre espécies na mesma lâmina de sangue. Infecções mistas por *P. falciparum* e *P. vivax* são provavelmente as mais comuns, mas em áreas altamente endêmicas, não é incomum encontrar três espécies diferentes no esfregaço de um mesmo paciente. Infecções mistas podem surgir ao mesmo tempo durante a época de transmissão, e são mais comuns quando o nível de transmissão é elevado. Uma espécie pode estar presente em densidade mais elevada, mascarando a presença das outras. Pode ocorrer

alternância da espécie predominante em um mesmo paciente do paciente ao longo do tempo. Microscopistas experientes conseguem diagnosticar infecções mistas em gota espessa, mas uma equipe menos experiente pode precisar examinar o esfregaço antes de chegar a um diagnóstico definitivo. Exemplos: infecção mista por *P. falciparum* e *P. vivax* (a, b) e por *P. vivax* e *P. malariae* (c)

Um trofozoíto de *P. malariae* (em forma de banda ou faixa) numa hemácia de tamanho normal e um trofozoíto maduro e muito maior de *P. vivax* em uma hemácia ingurgitada, apresentando granulações de Schüffner (d).



Anticoagulantes e algumas dificuldades no diagnóstico de infecções mistas

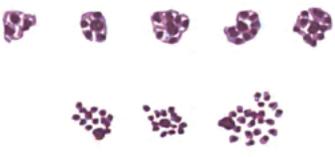
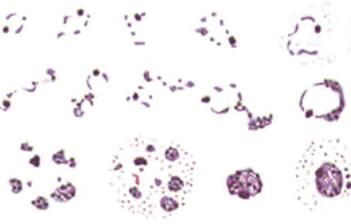
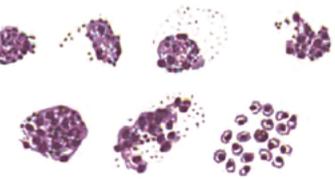
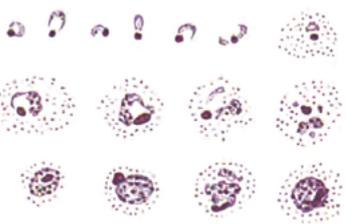
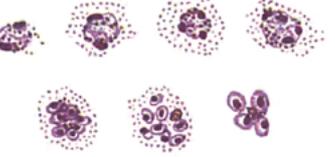
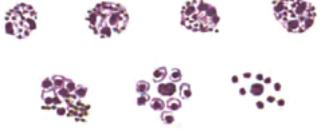
A identificação do estágio e da espécie depende de vários fatores, inclusive:

- condição do sangue quando da confecção da lâmina,
- qualidade da gota/esfregaço obtidos do sangue,
- qualidade da coloração,
- condição do microscópio,
- condições de utilização do microscópio, e
- nível de experiência do microscopista.

Esses fatores são interdependentes e cada um pode afetar o resultado do diagnóstico. Um problema adicional surge quando é usado anticoagulante, pois pode alterar o pH do sangue, o que pode afetar a qualidade da coloração. EDTA é o melhor anticoagulante a usar para o método de Giemsa, embora não deixe de alterar (ainda que levemente) a coloração. Podem ocorrer alterações morfológicas nos parasitos da malária e em outros componentes celulares quando a amostra de sangue foi armazenada em um banco de sangue ou em geladeira por qualquer período de tempo. Tais alterações podem ocorrer rapidamente

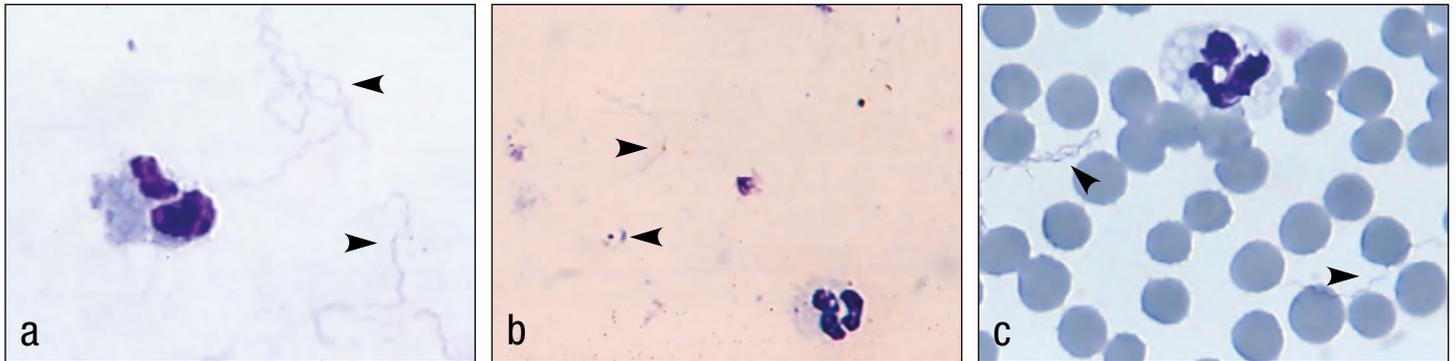
conforme o sangue esfria (vide Prancha 2b, fotomicrografias o e p à esquerda, demonstrando exflagelação de microgametócitos), e os parasitos começam a sofrer distorções devido à queda de temperatura. Quando isso ocorre, a identificação de estágio e espécie rapidamente se torna difícil e, em última instância, impossível. Em tais situações, os examinadores devem decidir se estão observando **estádios diferentes de espécies diferentes** e não **estádios diferentes da mesma espécie que sofreram alteração morfológica** e perderam suas características distintas. Conclui-se que o microscopista deve estabelecer as informações básicas antes de fazer o diagnóstico final. Assim, é possível que f e h representem infecção mista por *P. vivax* e *P. malariae*, mas as más condições dos leucócitos nas lâminas indicam que as amostras ficaram muito tempo paradas antes da confecção do esfregaço; as mudanças morfológicas que podem ter ocorrido levaram ao diagnóstico provisório de “infecção mista?”. As fotomicrografias e e g são mais convincentes, embora a presença de 20 ou mais leucócitos em um campo microscópico tão pequeno (g) dificultem a identificação da espécie e a coloração esteja excessivamente azul.

Resumo das características de cada estágio e espécie do parasito na gota espessa

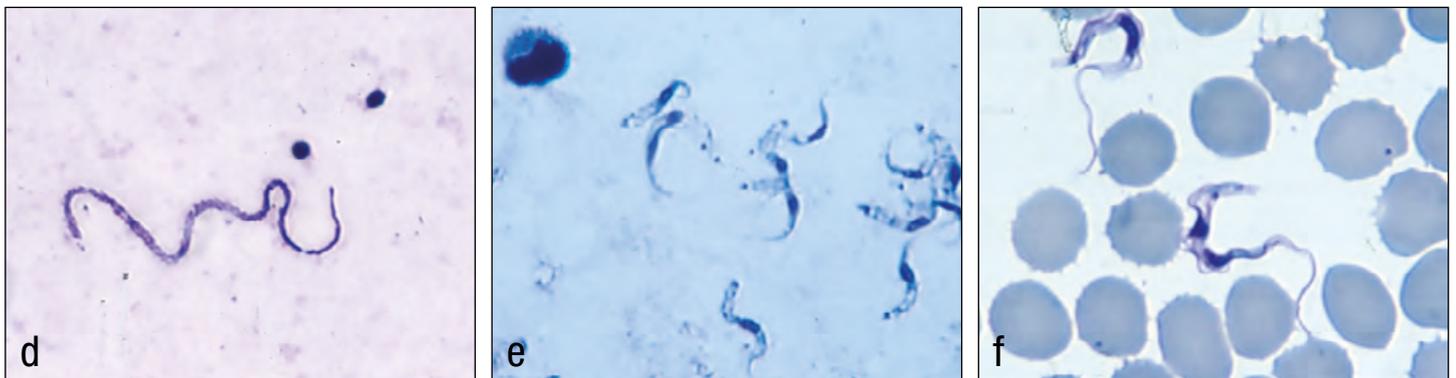
| Espécie | Trofozoito | Esquizonte | Gametócito |
|--|---|---|--|
| <p>Plasmodium falciparum</p> <p>Geralmente são visualizados trofozoítos jovens e em crescimento e/ou gametócitos maduros</p> |  <p>Tamanho: pequeno a médio; número: muitas vezes numerosos; forma: formas de anel e virgula são comuns; cromatina: geralmente dois pontos; citoplasma: regular, fino a grosseiro; formas maduras: às vezes presentes na malária grave, compactadas com pigmento (visível como poucos grãos grosseiros ou uma massa)</p> |  <p>Geralmente associado a muitas formas jovens em anel. Tamanho: pequeno, compacto; número: poucos, raros, geralmente na malária grave; formas maduras: 12-30 ou mais merozoítos em aglomerado compacto; pigmento: massa única, escura.</p> |  <p>Formas pontiagudas imaturas são incomuns. formas maduras: em forma de banana ou arredondadas; cromatina: única, bem definida; pigmento: disperso, grosseiro, com aspecto de grãos de arroz; corpo de extrusão rosado às vezes presente. É comum visualizar formas erodidas contendo apenas cromatina e pigmento.</p> |
| <p>Plasmodium vivax</p> <p>Todos os estádios são visualizados; granulações de Schüffner proeminentes na "imagem fantasma" das hemácias do hospedeiro, especialmente na borda do esfregaço</p> |  <p>Tamanho: pequeno a grande; número: pouco a moderado; forma: anel quebrado e formas irregulares são comuns; cromatina: única, às vezes dois pontos; citoplasma: irregular, ou fragmentado; formas maduras: compacta, densa; pigmento: disperso, tênue.</p> |  <p>Tamanho: grande; número: pouco a moderado; formas maduras: 12-24 merozoítos, normalmente 16, em aglomerado irregular; pigmento: massa não muito compacta.</p> |  <p>Formas imaturas difíceis de distinguir das maduras. Formas maduras: redonda, grande; cromatina: única, bem-definida; pigmento: disperso, tênue. É comum visualizar formas erodidas contendo pouco ou nenhum citoplasma, somente com a presença de cromatina pigmento.</p> |
| <p>Plasmodium ovale</p> <p>Todos os estádios são visualizados; granulações de Schüffner proeminentes na "imagem fantasma" das hemácias do hospedeiro, especialmente na borda do esfregaço</p> |  <p>Tamanho: pode ser menor que <i>P. vivax</i>; número: geralmente poucos; forma: compacta, em anel ou arredondada; cromatina: única, proeminente; citoplasma: bastante regular, carnudo; pigmento: disperso, grosseiro.</p> |  <p>Formas jovens difíceis de distinguir dos trofozoítos maduros. Formas maduras: redondas, podem ser menores que as de <i>P. vivax</i>; cromatina: única, bem definida; pigmento: disperso, grosseiro. Há formas erodidas contendo apenas cromatina e pigmento.</p> |  <p>Tamanho: parecido com <i>P. malariae</i>; número: poucos; formas maduras: 4-12 merozoítos, geralmente 8, em aglomerado não muito compacto; pigmento: massa concentrada</p> |
| <p>Plasmodium malariae</p> <p>Todos os estádios são visualizados</p> |  <p>Tamanho: pequeno, geralmente poucos; forma: compacta, em anel ou arredondada; cromatina: única, grande; citoplasma: regular, denso; pigmento: disperso, abundante, com coloração amarelada nas formas mais maduras.</p> |  <p>Tamanho: pequeno, compacto; número: geralmente poucos; formas maduras: 6-12 merozoítos, geralmente 8, em aglomerado não muito compacto, alguns aparentemente sem citoplasma; pigmento: concentrado.</p> |  <p>Formas jovens e algumas formas maduras difíceis de distinguir dos trofozoítos maduros. formas maduras: redondas, compactas; cromatina: única, bem definida; pigmento: disperso, grosseiro, possivelmente com distribuição periférica. Há formas erodidas contendo apenas cromatina e pigmento.</p> |

Elementos estranhos no esfregaço de sangue periférico

Espiroquetas de *Borrelia* spp., tripanossomos e microfilárias

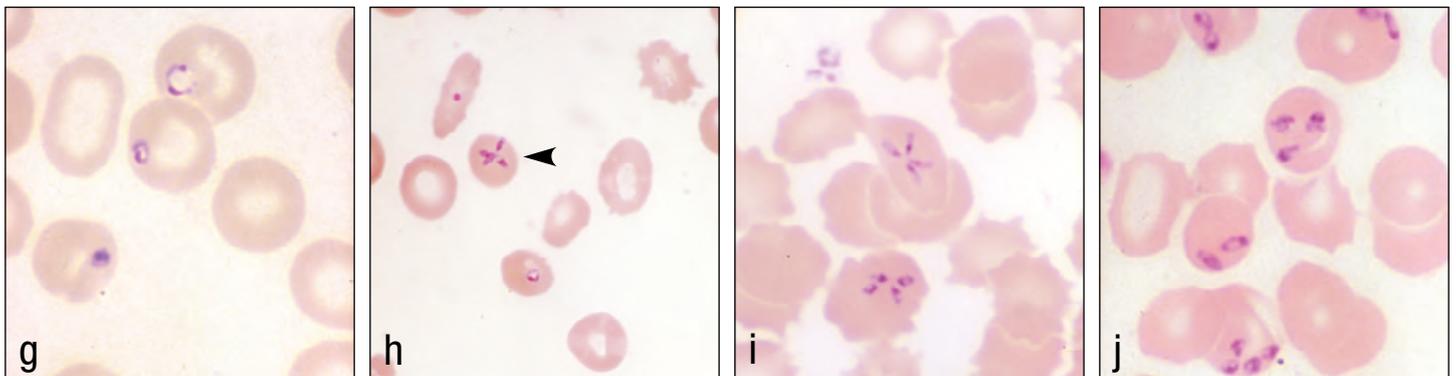


Em partes da África, espiroquetas causadores de febres recorrentes transmitidas por carrapatos ou piolhos podem ser observadas em esfregaços de sangue periférico (**a**, seta, gota espessa; **c**, esfregaço) e podem estar presentes concomitantemente aos parasitos da malária (**b**: seta inferior, trofozoíto de *P. falciparum*; seta superior, *Borrelia* spp.).



Microfilárias são comuns em gota espessa (**d**, *Wuchereria bancrofti*, distribuída em todos os trópicos), e os tripanossomos causadores da doença do sono (**e**, gota espessa; **f**, esfregaço delgado) podem ser observados, especialmente em partes da África. Todas as imagens coradas pelo método de Field. Fotomicrografias cortesia da Dra. Jane Carter.

Babesiose



De tempos em tempos, doenças normalmente encontradas nos animais são transmitidas aos seres humanos. Essas doenças recebem o nome de zoonoses. A babesiose é um bom exemplo. Foram identificados casos humanos na Ásia, Europa e América do Norte; na África, foram encontrados anticorpos anti-*Babesia*, indicando que a infecção ocorre. A semelhança morfológica da *Babesia* com certos estádios do ciclo eritrocítico de *P. falciparum* dificulta o diagnóstico (**g**). O tratamento atual da infecção por *Babesia* é uma combinação de quinino e clindamicina. A doença é transmitida pela picada de carrapatos infectados; portanto, seres humanos em contato com carrapatos de cães, gado e cavalos podem ser expostos. Devido à sua raridade e semelhança visual com os primeiros trofozoítos de *Plasmodium*, o diagnóstico de *Babesia* em esfregaços de sangue humano pode ser tão inesperado quanto difícil. Lembre-se das seguintes diferenças entre *Plasmodium* e *Babesia*:

As espécies de *Babesia* não produzem pigmento.

- Não há esquizontes nem estádios gametocíticos.
- A reprodução é por “brotamento”, com quatro merozoítos em aspecto de “cruz de Malta” (**h**, **i**).
- A infecção múltipla das hemácias é mais comum do que na malária (**l**).

Quando um paciente não responde ao tratamento antimalárico, justifica-se extenso reexame das lâminas de sangue (tanto gota espessa quanto esfregaço) para eliminar a *Babesia* spp. como possível causa da doença, prestando especial atenção aos pontos acima.

Esta nova publicação – *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária* – mantém muitas das fotomicrografias coloridas originais da segunda edição dos *Bench aids for the diagnosis of malaria infections* (OMS, 2000), mas o texto foi editado com base nos aportes de profissionais que trabalham em campo.

Estas pranchas, verdadeiros auxílios visuais, destinam-se a um amplo público de professores, instrutores, estudantes, laboratoristas e agentes de campo em comunidades remotas e isoladas em países onde a malária é endêmica. Também podem servir como um recurso para microscopistas que realizem exames de malária em países onde a malária não é endêmica e há pouca experiência no reconhecimento dos parasitos que a causam.

ISBN 978 92 4 154786 4



9 789241 547864