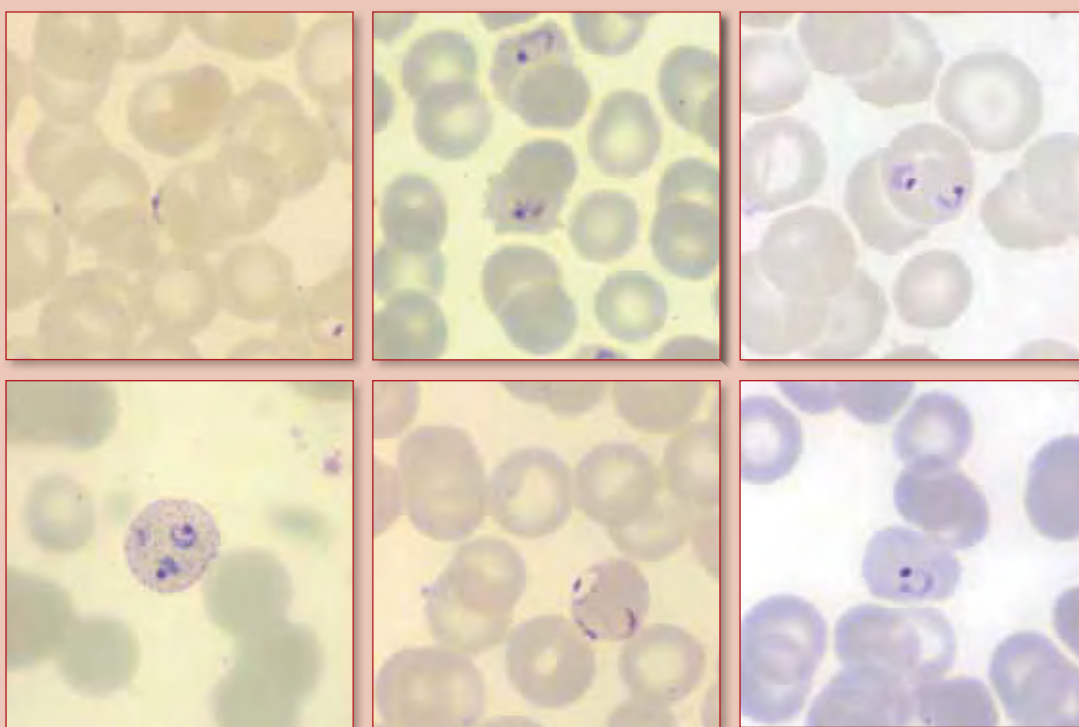


Bases do DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO DA MALÁRIA

Parte I. Guia do aluno



Segunda Edição

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
DEPARTAMENTO REGIONAL PARA AS Américas

Esta segunda edição do volume *Bases do diagnóstico microscópico da malária* é um produto independente, contendo todo o necessário para a realização de um curso completo de capacitação. Foi compilada por John Storey com base nas contribuições de uma ampla variedade de profissionais e especialistas que usaram a primeira edição da obra, publicada em 1991 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Contém, ainda, as belas e precisas ilustrações em aquarela preparadas para a primeira edição do manual pelo falecido Yap Loy Fong. A experiência demonstrou que as ilustrações em cores são melhores para treinar os novatos a reconhecerem os estádios e as espécies de parasitos, pois as figuras bidimensionais ajudam os alunos a extrapolar o que veem sob o microscópio, em vários planos focais, para obter uma visão completa do parasito. Posteriormente, os microscopistas podem passar dos desenhos às microfotografias, que terão um impacto positivo adicional. Este curso de capacitação será ainda mais eficaz se forem disponibilizados exemplares das *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária*, também da OMS, para os alunos.

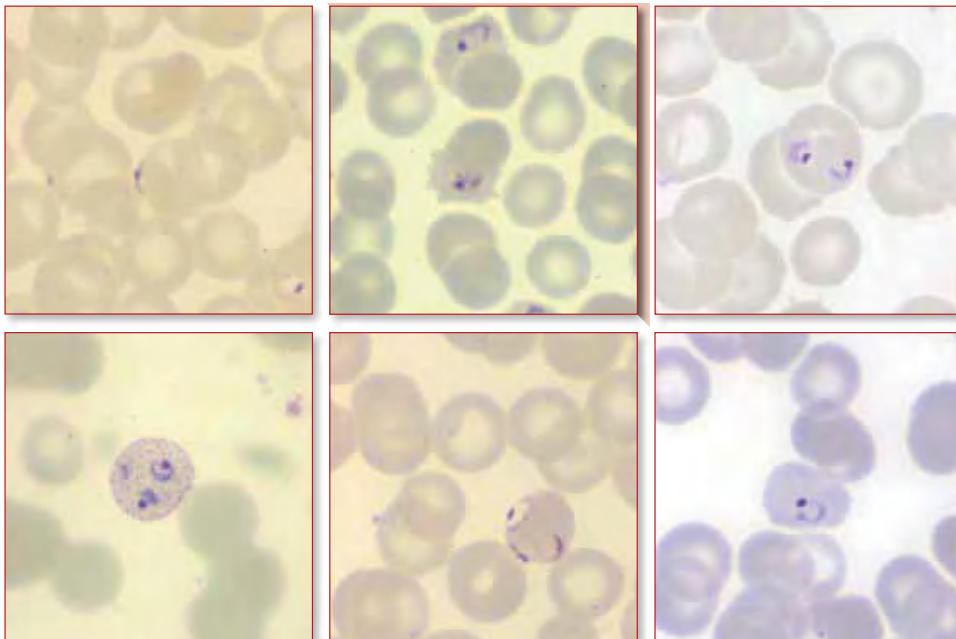
Revisão técnica da versão em português

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).

Destaques da capa: Fotomicrografias de esfregaços 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*.

Bases do **DIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO DA MALÁRIA**

Parte I. Guia do aluno



Segunda Edição

OPAS



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
SECTOR REGIONAL PARA
AMÉRICAS

Versão oficial em português da obra original em Inglês
Basic Malaria microscopy, 2nd ed (Part 1: Learner's guide - Part 2: Tutor's guide)
© World Health Organization 2010
ISBN: 978-92-4-154782-6 (Part 1), 978-92-4-154791-8 (Part 2)*

Bases do Diagnóstico Microscópico da Malária. Parte 1: Guia do Aluno

© Organização Pan-Americana da Saúde, 2020

ISBN: 978-92-75-72289-3 (Part I: Guia do Aluno)

ISBN: 978-92-75-72290-0 (Part 2: Guia do instrutor)

Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível nos termos da licença Atribuição-NãoComercial-Compartilhável 3.0 OIG de Creative Commons; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.pt>.



De acordo com os termos desta licença, esta obra pode ser copiada, redistribuída e adaptada para fins não comerciais, desde que a nova obra seja publicada com a mesma licença Creative Commons, ou equivalente, e com a referência bibliográfica adequada, como indicado abaixo. Em nenhuma circunstância deve-se dar a entender que a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) endossa uma determinada organização, produto ou serviço. O uso do logotipo da OPAS não é autorizado.

Adaptação: No caso de adaptação desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: "Esta é uma adaptação de uma obra original da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). As perspectivas e opiniões expressadas na adaptação são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es) da adaptação e não têm o endosso da OPAS".

Tradução: No caso de tradução desta obra, o seguinte termo de isenção de responsabilidade deve ser adicionado à referência bibliográfica sugerida: "Esta tradução não foi elaborada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). A OPAS não é responsável pelo conteúdo ou rigor desta tradução".

Referência bibliográfica sugerida. Bases do Diagnóstico Microscópico da Malária. Parte 1: Guia do Aluno. Brasília, D.F.: Organização Pan-Americana da Saúde; 2020. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Dados da catalogação na fonte (Cataloging in Publication - CIP). Os dados da CIP estão disponíveis em <http://iris.paho.org>.

Vendas, direitos e licenças. Para adquirir publicações da OPAS, escrever a sales@paho.org. Para solicitar uso comercial e indagar sobre direitos e licenças, acesse <http://www.paho.org/permissions>.

Materiais de terceiros. Para a utilização de materiais nesta obra atribuídos a terceiros, como tabelas, figuras ou imagens, cabe ao usuário a responsabilidade de determinar a necessidade de autorização e de obtê-la devidamente do titular dos direitos autorais. O risco de indenização decorrente do uso irregular de qualquer material ou componente da autoria de terceiros recai exclusivamente sobre o usuário.

Termo geral de isenção de responsabilidade. As denominações utilizadas e a maneira de apresentar o material nesta publicação não manifestam nenhuma opinião por parte da OPAS com respeito ao estatuto jurídico de qualquer país, território, cidade ou *área*, ou de suas autoridades, nem tampouco à demarcação de suas fronteiras ou limites. As linhas pontilhadas e tracejadas nos mapas representam as fronteiras aproximadas para as quais pode ainda não haver acordo definitivo.

A menção a determinadas empresas ou a produtos de certos fabricantes não implica que sejam endossados ou recomendados pela OPAS em detrimento de outros de natureza semelhante não mencionados. Salvo erros ou omissões, os nomes de produtos patenteados são redigidos com a inicial maiúscula.

A OPAS adotou todas as precauções razoáveis para verificar as informações constantes desta publicação. No entanto, o material publicado está sendo distribuído sem nenhum tipo de garantia, seja expressa ou implícita. A responsabilidade pela interpretação e uso do material recai sobre o leitor. Em nenhum caso a OPAS será responsável por prejuízos decorrentes de sua utilização.

Sumário

Prefácio da segunda edição	1
Introdução	3
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 1	
Malária, a doença	7
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 2	
Limpeza e armazenamento das lâminas para microscopia	13
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 3	
Como manter registos precisos	19
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 4	
Preparo dos esfregaços sanguíneos	21
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 5	
Coloração dos esfregaços sanguíneos pelo método de Giemsa	29
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 6	
O microscópio	37
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 7	
Exame dos esfregaços sanguíneos	45
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 8	
Exame do esfregaço sanguíneo para pesquisa do parasito da malária	51
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 9	
Exame de rotina do esfregaço sanguíneo para pesquisa do parasito da malária	69
<hr/>	
Unidade de aprendizagem 10	
Aspectos da supervisão do diagnóstico microscópico da malária	77



Prefácio da segunda edição

Uma consulta informal da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre a garantia de qualidade na microscopia da malária, realizada em 2004, em Kuala Lumpur, Malásia, resultou na recomendação de que a edição de 1991 do manual *Bases do diagnóstico microscópico da malária*¹ fosse revisada. Esta segunda edição é o resultado dessa recomendação.

Ocorreram poucas mudanças efetivas na microscopia da malária desde 1991, mas muita coisa mudou na maneira como a malária é diagnosticada e tratada. Atualmente, nas comunidades remotas, há um entendimento melhor de que a malária é uma emergência médica e requer diagnóstico e tratamento rápidos. Como parte dos esforços de muitos países para expandir o acesso ao tratamento, os serviços de microscopia estão sendo renovados e aprimorados. A confirmação parasitológica do diagnóstico de malária fortalece a vigilância da malária e melhora o controle da doença.

Os microscopistas são essenciais para os programas de malária, e tanto os serviços de atenção como a vigilância epidemiológica dependem de suas habilidades técnicas e de diagnóstico. Assim, o treinamento em diagnóstico microscópico da malária deve ser robusto e atender aos elevados padrões atuais. Quando os microscopistas são capacitados para realizar o diagnóstico de malária com qualidade garantida, as comunidades em risco têm maior confiança em seus serviços, o que é benéfico tanto para os pacientes como para os profissionais de saúde.

O módulo de capacitação aqui apresentado foi ajustado para atender à nova conjuntura. O manual está dividido em duas partes: o *Guia do aluno* (Parte I) e o *Guia do instrutor* (Parte II). O módulo inclui um CD-ROM, preparado pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, que contém microfotografias das diferentes espécies de parasitos da malária e informações técnicas em formato PowerPoint, que podem ser exibidas durante as sessões de capacitação e servir de referência para os participantes. O programa dá ênfase ao ensino e à aprendizagem, incluindo o monitoramento e a avaliação individual e em grupo durante o treinamento.

O programa *Bases do diagnóstico microscópico da malária* continua a usar o conceito de educação baseada em competências, visando atingir metas pré-estabelecidas. Procuramos indicar os níveis apropriados que qualificam o aluno para a formação e para avançar de uma unidade de aprendizado para a seguinte. Os níveis de competência a serem alcançados ao final deste curso de capacitação são os níveis mínimos definidos no manual da OMS sobre a garantia de qualidade na microscopia da malária.² Por exemplo, “Atingir 80% de exatidão no diagnóstico de parasitos da malária” (avaliado com base em um conjunto padrão de lâminas para microscopia) é considerado um nível alcançável por todos os participantes.

1 OMS. *Bases do diagnóstico microscópico da malária: Parte I: Guia do aluno; Parte II: Guia do instrutor*. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 1991.

2 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila: Escritório Regional do Pacífico Ocidental; 2009.

Reconhece-se, no entanto, que alguns programas talvez ainda não consigam atingir esses níveis e, inicialmente, precisarão estabelecer seus próprios. Os organizadores do curso devem indicar de antemão os níveis que esperam alcançar. Como os alunos, uma vez formados, tomarão decisões que determinarão o tratamento de uma doença potencialmente fatal, é fundamental que se assegure um alto padrão de competência.

Esta segunda edição do volume *Bases do diagnóstico microscópico da malária* é um produto independente, contendo todo o necessário para a realização de um curso completo de capacitação. Contém ainda as belas e precisas ilustrações em aquarela preparadas para a primeira edição do manual pelo falecido Yap Loy Fong. A experiência demonstrou que as ilustrações em cores são melhores para treinar os novatos a reconhecerem os estádios e as espécies dos parasitos, pois as figuras bidimensionais ajudam os alunos a extrapolar o que veem sob o microscópio, em vários planos focais, para obter uma visão completa do parasito. Posteriormente, os microscopistas podem passar dos desenhos às microfotografias, que terão um impacto positivo adicional. Este curso de capacitação será ainda mais eficaz se forem disponibilizados exemplares das *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária*³, também da OMS, para os alunos.

O texto desta edição foi extensivamente revisado por John Storey, com base na revisão técnica dos profissionais a seguir: Prof. Ahmed A. Abdel-Hameed Adeel, Dra. Hoda Atta, Dr. A. Beljaev, Dr. David Bell, Dr. Andrea Bosman, Sra. Leigh Dini, Dr. John Frean, Dr. M. A. Khalifa, Dr. D. Klarkowski, Dr. Ken Lilley, Dr. Earl Long, Dr. Majed Al Zedjali e Dr. R. Velayudhan. Além destes, Donato Esparrar, Ronald Espina, Sherwin Galit, Zenaida Grad, Felisa Guballa, John Fiel Porto e Arlene Leah Santiago também testaram as novas pranchas demonstrativas de gota espessa e esfregaço contidas no *Guia do aluno* e apresentaram valiosos comentários a respeito.

Este projeto foi coordenado pelo Escritório Regional do Pacífico Ocidental da OMS, a serviço do Programa Global de Malária da OMS, e recebeu apoio financeiro da AusAid e da Federação Russa, pelo qual somos muito gratos.

3 OMS. *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária*. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2009.

Introdução

Guia do aluno

Este manual (Parte I dos módulos de capacitação em *Bases do diagnóstico microscópico da malária*) ajudará os participantes durante seu treinamento em diagnóstico microscópico da malária humana. O manual foi concebido como base para um treinamento formal de quatro a cinco semanas de duração e destina-se a alunos com conhecimentos rudimentares de ciência.

Ao concluir a capacitação, o aluno será responsável pelo diagnóstico de malária com lâminas de sangue de casos suspeitos na sua comunidade. Desse modo, decisões importantes referentes ao tratamento dependem da sua competência em garantir o diagnóstico de malária sem supervisão. Para ganhar a confiança do público e do sistema de saúde, a qualidade da formação desses agentes deve ser a mais alta possível e deve poder ser demonstrada.

A estrutura do curso é “baseada em competências”, ou seja, apresenta informações técnicas essenciais para a aquisição de habilidades e instruções passo a passo em um formato facilmente compreensível. O treinamento é principalmente prático. Ao final do curso, os alunos devem demonstrar ter adquirido um alto nível de competência. A educação baseada em competências é uma maneira eficaz e comprovada para a aquisição das habilidades essenciais aos serviços públicos de saúde e de atenção à saúde.

Além de capacitar os profissionais de saúde nos fundamentos do diagnóstico microscópico da malária, os módulos podem ser usados para a reciclagem de agentes já formados que realizam microscopia padrão da malária pelo método de Giemsa. Como esse pessoal já tem uma formação sólida e ampla experiência de trabalho, devem conseguir atingir os objetivos do curso em 11 ou 12 dias úteis. Para os laboratoristas e microscopistas de hospitais distritais ou estaduais/regionais já familiarizados com os procedimentos de laboratório, um curso mais curto pode ser benéfico, pois embora o diagnóstico microscópico da malária faça parte da rotina diária desses profissionais, os cursos de reciclagem ajudam a garantir a exatidão.

Este manual está dividido em unidades de aprendizagem. As observações e instruções contidas em cada unidade são suficientes para reduzir ao mínimo possível a quantidade de anotações a serem tomadas pelos alunos, permitindo desse modo que participem plenamente das palestras e discussões. Ainda assim, há uma página em branco para anotações no final de cada unidade.

Os procedimentos operacionais padrão são descritos e devem ser seguidos de maneira apropriada para que, após concluído o curso, este manual continue a servir de referência para os alunos formados. Isso é especialmente útil para os alunos que trabalharão em áreas isoladas onde ainda assim é preciso assegurar um padrão elevado de diagnóstico.

Antes de passar de uma unidade para a seguinte, os alunos precisam atingir um nível de competência designado em cada habilidade identificada. Caso não consiga, isso indica que as habilidades do aluno ainda são insuficientes, e o treinamento deverá ser repetido até que o aluno demonstre domínio do tema.

Obs.: Os níveis de exatidão são baseados em graus mínimos de competência, conforme definido no manual da OMS sobre a garantia de qualidade na microscopia da malária.⁴ Os níveis definidos são geralmente de 80–95%. Por exemplo, um microscopista que trabalha em um serviço periférico deve ser capaz de detectar com exatidão a presença do parasito da malária em 90% das lâminas de um conjunto padrão de lâminas para acreditação e identificar a espécie exata de plasmódio em 80% das lâminas. Esses níveis podem parecer altos demais para alguns e baixos demais para outros; os níveis específicos serão decididos pelos organizadores do curso. Quando a vida de um paciente está em risco, deve-se almejar o mais alto nível de precisão. Com esse tipo de capacitação e o tempo de prática especificado, os alunos devem ser capazes de atingir o nível de exatidão selecionado para o curso. Essa abordagem minimiza os erros de microscopia e ajuda a reduzir a morbimortalidade por malária grave nas comunidades.

A educação baseada em competências é bem descrita pela última linha do seguinte provérbio chinês. Os facilitadores e alunos seguem essa estratégia ao longo do curso:

**Quem ouve, esquece.
Quem vê, lembra.
Quem faz, entende.**

Objetivos do curso

Objetivos gerais

Os objetivos gerais descrevem em termos gerais o que cada aluno deve ser capaz de realizar ao ter concluído o treinamento. Os alunos serão capazes de:

- organizar e administrar um pequeno laboratório de diagnóstico microscópico da malária; e
- diagnosticar com exatidão, pelo uso do método de Giemsa e de procedimentos operacionais padrão reconhecidos internacionalmente, a infecção por malária em pacientes.

Objetivos específicos

Os objetivos específicos abrangem os conhecimentos, habilidades e atitudes que os alunos adquirirão e sua capacidade de usá-los. Eles também ilustram a abordagem passo a passo usada para alcançar cada objetivo. Os alunos devem estar cientes do que é esperado deles desde o início do treinamento.

Após a conclusão do treinamento, os alunos devem ter adquirido as habilidades e competências necessárias para:

4 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila: Escritório Regional do Pacífico Ocidental; 2009.

- descrever a importância da malária como uma doença potencialmente fatal, na qual o diagnóstico e tratamento precoces e precisos são essenciais para a recuperação e sobrevivência do paciente;
- descrever quatro sinais e sintomas clínicos clássicos da malária;
- registrar, em fichas de laboratório ou de pesquisa apropriadas, detalhes relevantes do paciente para informação e acompanhamento subsequentes;
- demonstrar sua capacidade de preparar corretamente lâminas para esfregação de sangue;
- preparar adequadamente um número pré-estabelecido de gotas espessas e esfregaços;
- demonstrar as práticas e precauções corretas para impedir a transmissão de patógenos transmitidos pelo sangue ao manusear amostras de sangue;
- demonstrar os procedimentos corretos do método de Giemsa para a coloração de gotas espessas e esfregaços para diagnóstico microscópico da malária;
- demonstrar e descrever os métodos utilizados para manutenção dos microscópios;
- demonstrar e utilizar os procedimentos corretos para exame de gota espessa e esfregaço para detecção do parasito da malária;
- demonstrar capacidade de identificar corretamente os elementos do sangue normal;
- reconhecer e identificar parasitos da malária presentes em gota espessa e esfregaço; identificar o(s) estágio(s) do plasmódio, a presença de espécies individuais ou infecções mistas por *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*;
- determinar a parasitemia (densidade parasitária) no esfregaço sanguíneo;
- registrar os resultados do exame microscópico na ficha ou formulário correto;
- informar as conclusões do exame aos responsáveis em tempo hábil;
- demonstrar compreensão da necessidade de respeitar o sigilo do paciente e de questões éticas relevantes;
- seguir os procedimentos corretos do programa nacional no que diz respeito ao envio de relatórios e notificações, armazenamento de lâminas para auditoria e preparo de requisições de insumos, de modo a garantir o bom funcionamento das instalações de microscopia;
- utilizar este manual como um recurso para ensinar aos profissionais de saúde como obter gota espessa e esfregaço de sangue, como parte da transferência de habilidades e desenvolvimento de equipe; e
- organizar, seguindo as políticas e requisitos do programa nacional de controle da malária, a colaboração necessária para a supervisão regular dos trabalhos do laboratório.

Obs.: Salvo indicação em contrário, toda menção à "coloração" no texto refere-se à coloração de Giemsa.

O programa de capacitação

O treinamento é ministrado por um instrutor, auxiliado por uma equipe de facilitadores. Cada turma é dividida em pequenos grupos de três a cinco alunos, e um facilitador é designado para cada grupo. Usando o *Guia do aluno*, os participantes são orientados ao longo de cada unidade. O facilitador assegura que cada aluno receba a orientação adequada e atinja os níveis exigidos. Assim, os alunos recebem atenção individual de um facilitador experiente, que monitora seu progresso para garantir que cada um tenha alcançado o padrão exigido antes de prosseguir para a próxima unidade, e ministra instrução adicional quando necessário.

As aulas consistem em palestras de 15 a 20 minutos, seguidas de atividades como demonstrações, dinâmicas em pequenos grupos e dramatizações. A maior parte do treinamento é ministrada na forma de sessões práticas. A prática regular ajuda os alunos a adquirir as habilidades e conhecimentos necessários para realizar o diagnóstico microscópico da malária pelo método de Giemsa com o máximo de eficiência. O cronograma inclui o máximo de tempo de prática possível, para que os alunos obtenham experiência prática em todos os aspectos da microscopia da malária. O trabalho de campo faz parte da prática, e um objetivo adicional é proporcionar a experiência interpessoal de trabalhar com pacientes com suspeita de malária em um ambiente da vida real. Isso pode revelar outros problemas que podem surgir em situações cotidianas.

Realizam-se avaliações formais periodicamente para avaliar as conquistas de cada aluno e proporcionar informações sobre os indivíduos e o grupo.

Avaliação do aluno: Essas avaliações podem incluir perguntas de múltipla escolha, provas surpresa, apresentações pelos participantes e exame de lâminas preparadas ou didáticas. Este último deve ser um exercício regular à medida que os alunos progredem através do curso, pois ajuda os facilitadores a avaliar as conquistas individuais de cada aluno. Também é útil para identificar áreas nas quais cada aluno tem problemas, proporcionando a oportunidade de abordar e corrigir esses problemas.

Avaliação da capacitação pelo aluno: Por meio de um questionário, o instrutor pergunta aos alunos como eles acham que o treinamento os ajudou e como ele pode ser melhorado. Essas sessões periódicas de avaliação também permitem aos participantes comentar sobre a instrução ministrada, o nível do ensino, a qualidade dos materiais utilizados e outras condições do treinamento. Os comentários dos alunos devem sempre ser anônimos, de modo a permitir modificações construtivas.

O instrutor e os facilitadores apresentarão o curso e os materiais a serem utilizados, inclusive este manual. Se você encontrar dificuldades em qualquer momento do curso, não hesite em entrar em contato com o seu facilitador para obter ajuda.

Leia a Unidade de aprendizagem 1 para se preparar para o início do curso.

Unidade de aprendizagem 1

Malária, a doença

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta unidade, você será capaz de:

- **descrever** por que a malária é um importante problema de saúde pública em muitas partes do mundo;
- **descrever** quatro sintomas comuns da malária;
- **descrever** por que algumas pessoas têm parasitos da malária no sangue, mas não apresentam sintomas clínicos;
- **explicar** como os parasitos da malária causam a doença no ser humano;
- **explicar** como as fêmeas de algumas espécies do mosquito *Anopheles* transmitem a malária; e
- **explicar** por que o diagnóstico preciso da malária depende da identificação microscópica correta.

A importância da malária

A malária é um problema de saúde pública importante em muitas partes do mundo. Os ataques ou acessos da doença podem ser graves e levar à morte rapidamente se não forem tratados. Nas comunidades com níveis elevados de malária, a doença é crônica para muitos, o que resulta em absenteísmo no trabalho e na escola. Ataques repetidos resultam não apenas em gastos enormes com tratamento, mas também afetam a escolaridade, a quantidade de comida cultivada pela família e a renda domiciliar. A malária apresenta um risco muito sério para as gestantes e os bebês e é uma causa comum de aborto espontâneo. Em áreas com transmissão elevada, a malária é responsável por baixo peso ao nascer e anemia materna, sendo um risco particularmente alto na primeira gravidez. A falta de conhecimento a respeito da malária, a pobreza e a doença crônica formam um círculo vicioso muito difícil de quebrar.

A malária é causada por um pequeno organismo vivo, chamado parasito, que infecta as hemácias (glóbulos vermelhos do sangue). O parasito é transmitido de pessoa para pessoa pela picada das fêmeas do mosquito *Anopheles*. Antes que a transmissão possa ocorrer, o parasito passa por um ciclo bastante complexo no mosquito e no homem. No vetor (mosquito), o ciclo dura de uma a três semanas, dependendo de vários fatores, como a espécie de parasito, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar.

Nos últimos anos, tentou-se controlar a doença por meio do uso de telas mosquiteiras tratadas com inseticida, do diagnóstico imediato e de um tratamento

adequado. Essas tentativas resultaram em reduções significativas na morbimortalidade por malária em alguns países. Porém, em outros lugares, a malária continua sendo a principal causa de doença e morte.

Sinais e sintomas clínicos da malária

A malária é razoavelmente fácil de reconhecer em pessoas que nunca tiveram a doença antes ou que tiveram poucos ataques. Os sintomas mais comuns da malária são febre alta, dor de cabeça, calafrios intensos ou tremores, sudorese abundante e dores no corpo em geral. Alguns pacientes podem ter vômitos, tosse e diarreia. Nas infecções persistentes e recaídas, pode haver anemia.

Como sinais clínicos semelhantes são encontrados em outras doenças comuns, é preciso realizar certos exames adicionais antes de estabelecer com confiança o diagnóstico de malária. O quadro clínico da malária é menos claro em pacientes que já sofreram vários ataques de malária, pois eles geralmente não apresentam sinais ou sintomas evidentes. Também é preciso ter cuidado ao determinar se o paciente tomou medicamentos antimaláricos antes de ir ao hospital, pois isso pode modificar o quadro clínico. O tratamento prévio com antimaláricos, por reduzir a parasitemia para níveis muito baixos, pode dificultar o diagnóstico microscópico. É importante saber qual tratamento foi recebido para evitar uma superdosagem de medicamentos antimaláricos, que pode ser muito perigosa, principalmente se o paciente estiver inconsciente ao ser internado no hospital.

Qual é a melhor maneira de diagnosticar a malária?

Na maioria dos laboratórios municipais, distritais e regionais/estaduais, o método mais confiável para diagnosticar a malária é o exame microscópico de um esfregaço de sangue corado, obtido do caso suspeito e analisado por um microscopista capacitado. O diagnóstico microscópico da malária é uma prática especializada que requer muito cuidado, grande atenção a cada etapa dos procedimentos operacionais padrão e habilidade visual e capacidade de diferenciação extremamente precisas.

Obs.: Seu instrutor ou facilitador explicará os significados de “habilidade visual”, “capacidade de diferenciação” e outras palavras deste texto que podem não ser familiares. A maioria será fácil de entender após essas explicações.

A malária é provocada pela presença de um parasito no sangue. Os parasitos são muito pequenos (microscópicos), e só é possível enxergá-los sob um microscópio com grande ampliação. Porém, para que seja possível enxergar os parasitos, é preciso preparar o sangue de maneira especial (esfregaço), secá-lo, corá-lo e examiná-lo ao microscópio. Quando o microscopista enxerga os parasitos corados (tingidos) no esfregaço, confirma-se o diagnóstico de malária. Os microscopistas que usarem as habilidades aprendidas durante este treinamento serão capazes de identificar os diferentes estádios e espécies do parasito da malária, além da densidade da infecção. Usando essas informações, o médico ou profissional de saúde pode tratar o paciente com os medicamentos antimaláricos mais apropriados, da melhor maneira possível.

A suspeita de malária é uma emergência, e a pessoa deve consultar um profissional de saúde rapidamente. O exame do esfregaço de sangue do paciente garante o diagnóstico rápido e ajuda a assegurar o tratamento correto em tempo hábil. Não o fazer pode colocar o paciente em grave risco.

As descrições das diferentes etapas do diagnóstico microscópico da malária podem parecer muito difíceis de aprender, mas isso não é verdade. Com a ajuda do seu facilitador, as unidades de aprendizagem seguintes (de 2 a 10) proporcionam orientação em cada etapa e definem os padrões necessários para que você realize esse trabalho. No final da unidade 10, você terá adquirido as habilidades mais importantes para o diagnóstico microscópico da malária e, como reconhecimento, você receberá um certificado ou credenciamento de competência (dependendo da política do seu país). Isso será explicado durante o curso.

Um paciente diagnosticado erroneamente com malária pode não passar por outros exames, o que pode significar que outra doença grave será ignorada.

O ciclo de vida do parasito da malária

Para sua informação incluímos aqui uma descrição do ciclo de vida do parasito, a qual mostra como o ciclo é complexo e como pode ser difícil controlar a malária (Figura 1). A menos que seu facilitador peça, você não precisa memorizar as várias partes do ciclo e pode consultar o texto e o diagrama no final desta unidade.

A malária no vetor anofelino (mosquito)

O ciclo sexual

O ciclo sexual dos parasitos da malária começa quando a fêmea de uma espécie específica de mosquito, o *Anopheles*, consome o sangue de uma pessoa infectada. As formas masculinas dos parasitos da malária (microgametócitos), presentes no sangue da pessoa infectada, são sugadas para o estômago do mosquito e lá produzem de quatro a oito flagelos. Cada flagelo se separa do corpo do “pai” e nada pelo sangue coagulado no estômago do mosquito. Quando encontra uma forma feminina do parasito da malária (macrogametócito), entra nela e a fecunda. Após a fecundação, forma-se um zigoto, que migra até a parede do estômago do mosquito, penetra entre as células da parede do estômago, se instala sob a camada externa do estômago e forma um oocisto (encistamento). Nesse oocisto, os parasitos da malária se multiplicam até que o oocisto contenha milhares de novos parasitos. O oocisto acaba se rompendo e libera os esporozoítos, células em forma de fuso que chegam até as glândulas salivares do mosquito. O tempo necessário para que o ciclo de vida do parasito se complete no mosquito — ou seja, entre o momento em que a fêmea ingere o sangue de uma pessoa infectada e

o tempo em que se torna capaz de transmitir a malária — varia de acordo com a espécie, a temperatura e a umidade do ambiente, mas é geralmente de 7 a 21 dias.

A malária no ser humano

A fase hepática (no fígado)

Quando a fêmea infectada do mosquito *Anopheles* pica uma pessoa, os esporozoítos são introduzidos no sangue junto com a saliva que o mosquito usa como anticoagulante. Esse anticoagulante evita a coagulação do sangue na probóscide (picador ou sugador) do mosquito, que é muito pequena e estreita. Uma vez dentro do ser humano, os esporozoítos migram rapidamente para o fígado e tentam invadir suas células, chamadas hepatócitos.

No hepatócito infectado, um único parasito se divide e gera milhares e milhares de novos parasitos ao longo de 7 a 21 dias. Esse hepatócito inchado, chamado esquizonte hepático, se rompe e libera milhares de merozoítos na corrente sanguínea. Rapidamente, os merozoítos aderem e entram nas hemácias (glóbulos vermelhos do sangue). Ao adentrar na hemácia, o parasito começa a crescer, usando o conteúdo da célula como alimento e se transforma em trofozoíto.

Esta breve descrição do que acontece na fase hepática se aplica a duas espécies de parasitos da malária que atacam o ser humano: *P. falciparum* e *P. malariae*. As outras duas espécies, *P. vivax* e *P. ovale*, têm um ciclo ligeiramente diferente, em que vários parasitos que se inserem nos hepatócitos não se tornam esquizontes imediatamente, entrando em uma espécie de hibernação. Esses parasitos adormecidos, chamados de hipnozoítos ou variáveis adormecidas, são responsáveis pelas recaídas que ocorrem em intervalos regulares após o primeiro ataque de malária.

A fase sanguínea (no sangue)

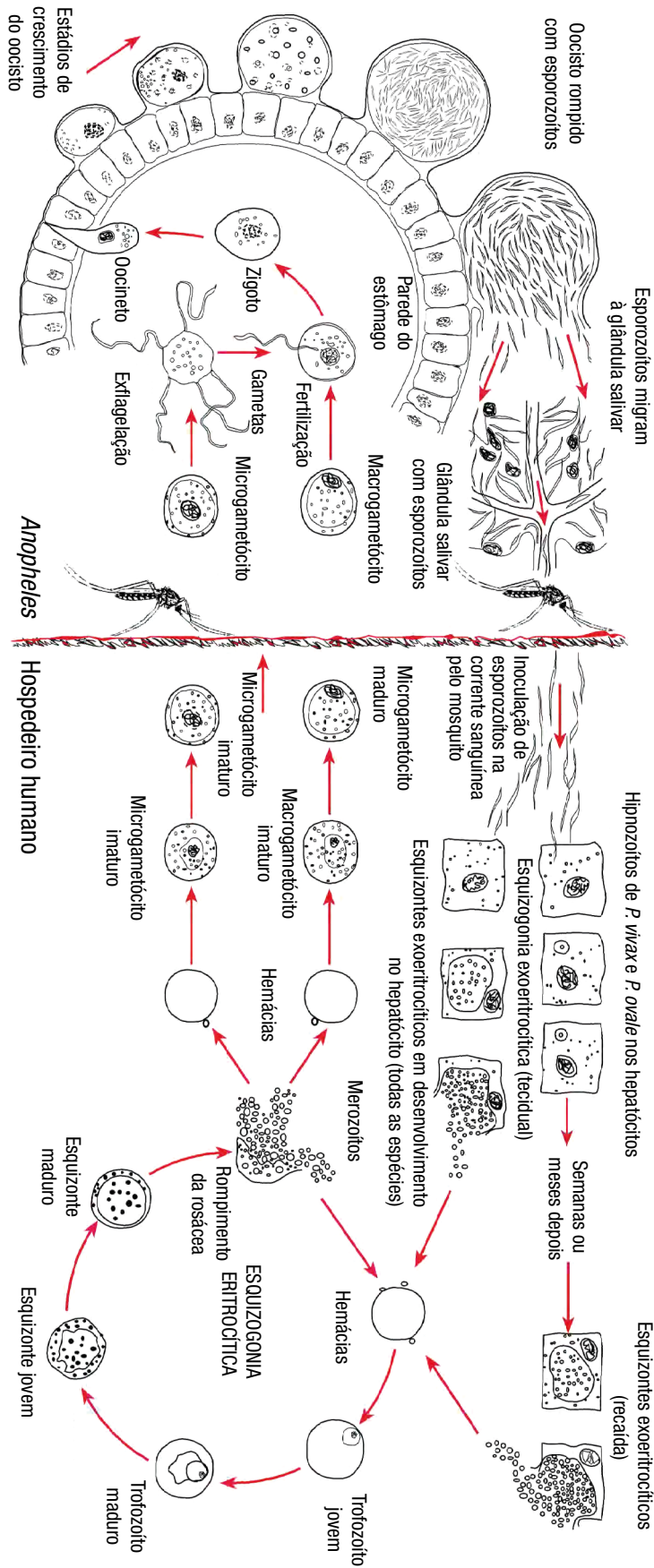
A fase sanguínea é o foco deste curso. Ao final do treinamento, você estará plenamente familiarizado com todos os seus aspectos.

No momento, é só isso que você precisa saber sobre os parasitos da malária e seu ciclo de vida. O instrutor descreverá outros aspectos do assunto à medida que você avança no curso. O diagrama a seguir mostra claramente o ciclo de vida e a transmissão do parasito. Você aprenderá mais sobre o surgimento dos parasitos da malária nas lâminas de sangue (gota espessa e esfregaço) nas Unidades de aprendizagem 7 e 8.

Para maior clareza, leia novamente a Introdução e a Unidade de aprendizagem 1. Em seguida, leia a Unidade de aprendizagem 2 para se preparar para a próxima sessão.

Figura 1. **Ciclo de vida do parasito da malária**

Figura reproduzida (com pequenas alterações) de *Bruce-Chwatt's Essential Malariaology*. Londres: Arnold; 1993, com permissão de H.M. Gilles e D.A. Warrell (eds.).



Anotações

Unidade de aprendizagem 2

Limpeza e armazenamento das lâminas para microscopia

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta unidade, você será capaz de:

-
- **descrever** um procedimento operacional padrão e explicar sua importância para o diagnóstico microscópico da malária;
 - **selecionar**, entre uma série de lâminas preparadas, aquelas adequadas para a realização de esfregaço de sangue e demonstrar por que outras lâminas não são adequadas; e
 - **demonstrar** as duas maneiras corretas de lavar, secar, embrulhar e armazenar lâminas para microscopia para a confecção de esfregaços de sangue.
-

0 trabalho no laboratório

Se esta é a primeira vez em que você trabalha em um laboratório, talvez não se sinta familiarizado, ou fique nervoso. *Não se preocupe*. Uma vez familiarizado com o funcionamento do laboratório, sentirá como se sempre tivesse trabalhado nele. Algumas regras simples podem ajudá-lo a se instalar rapidamente:

Regras básicas no laboratório:

- Não toque, abra, nem cheire garrafas, frascos e recipientes ou produtos químicos, a menos que tenha sido instruído a fazê-lo ou que saiba o que está fazendo e **saiba o que está no frasco**.
 - Limpe os materiais ao terminar o seu trabalho: não deixe vidrarias ou lâminas sujas para outra pessoa lavar.
 - Não coma nem beba no laboratório. Use as áreas designadas para isso.
 - Não fume.
 - Use as precauções corretas ao manusear amostras biológicas, produtos químicos e objetos perfurocortantes, como agulhas e lancetas.
 - Tome os devidos cuidados ao manusear líquidos corrosivos ou ácidos ou com vapores fortes.
 - Use luvas de proteção ao manusear materiais contaminados ou que tenham sangue.
 - Descarte os materiais contaminados nos recipientes designados para tal; se você não tiver certeza quais são ou onde se encontram, **pergunte a alguém que saiba**.
 - Sempre que terminar um serviço, lave as mãos imediatamente com água e sabão.
-

Procedimentos operacionais padrão

Os procedimentos operacionais padrão são amplamente utilizados por médicos e laboratórios. Uma descrição desses procedimentos é “um conjunto de instruções escritas que documentam a maneira correta de realizar uma atividade rotineira ou repetitiva”. Essa é uma definição simplificada, mas o facilitador explicará como os procedimentos operacionais padrão se aplicam ao seu trabalho. Lembre-se: à medida que avança em cada unidade de aprendizagem, cada atividade segue uma série de etapas, e cada etapa deve atingir um padrão ou nível designado. Se você seguir a etapa corretamente e atingir o nível designado, o produto do seu trabalho (nesta unidade, lâminas limpas e embaladas) será considerado satisfatório. Não seguir as instruções fornecidas em um procedimento operacional padrão estabelecido resultará em um produto de menor qualidade ou menos confiável.

A base deste programa de treinamento é a observância das etapas recomendadas. Ao cumpri-las, você alcançará os níveis de competência que o qualificarão para praticar o diagnóstico microscópico da malária.

A primeira lição é que você deve seguir as instruções dadas pelo seu facilitador, pois ele ou ela usará procedimentos operacionais padrão que resultam em um diagnóstico confiável da malária.

Limpeza das lâminas

A limpeza correta das lâminas será sua primeira atividade. Como a maioria das atividades abordadas nas unidades, esta é bastante simples. Os procedimentos devem ser seguidos para evitar resultados ruins.

As lâminas que não foram limpas adequadamente resultam em esfregaços sanguíneos abaixo do padrão de qualidade, coloração ruim e microscopia e diagnóstico imprecisos. Isso coloca os pacientes em risco. Para evitar esta situação, certifique-se de que as lâminas estejam bem escolhidas, limpas, embaladas e armazenadas.

Lâminas para diagnóstico microscópico da malária

As lâminas de vidro usadas em microscopia, geralmente chamadas de “lâminas para microscopia”, são normalmente fornecidas em caixas de 50 ou 72. Podem ser descritas na embalagem como “lavadas” ou “pré-lavadas”.

Para o diagnóstico microscópico da malária, prefira lâminas de vidro simples de qualidade “superior”, com bordas retificadas e uma extremidade fosca. A extremidade fosca deve servir como rótulo. Mesmo nos trópicos, o vidro usado em lâminas de qualidade “superior” não embaça nem fica opaco. As lâminas de vidro de baixa qualidade são mais baratas, mas deterioram-se rapidamente em um clima quente e úmido; a lavagem não remove as manchas opacas, e as lâminas ficam inutilizadas para uma microscopia precisa. Embora as lâminas sejam descritas

como “pré-lavadas” ou “limpas”, isso não significa que elas possam ser usadas diretamente da caixa. ***As lâminas para microscopia precisam ser lavadas, secas e embaladas antes de serem utilizadas.***

As lâminas levemente arranhadas e consideradas impróprias para uso em esfregaços sanguíneos podem ser entregues a outras seções do laboratório para uso rotineiro.

Lavagem e preparo das lâminas

Descreveremos a seguir duas maneiras de lavar e preparar lâminas para esfregaços sanguíneos. Seu facilitador oferecerá orientação por essas etapas, descrevendo e demonstrando os dois métodos.

Para laboratórios hospitalares

Nos hospitais, os pacientes geralmente comparecem um por vez, e há tempo para limpar as lâminas conforme necessário. É suficiente abrir uma caixa de lâminas novas de cada vez.

Você precisará de:

- uma caixa de lâminas para microscopia novas de qualidade “superior”;
- uma bacia ou tigela plástica de tamanho médio;
- detergente líquido ou em pó de boa qualidade;
- um pano de prato ou esponja macia;
- panos de algodão limpos que não soltam fiapos (do tipo usado para secar louças ou copos);
- álcool metílico;⁵
- um vidro de boca larga com tampa de rosca para guardar o álcool e as lâminas; e
- uma fonte de água limpa.

O método:

1. Separe as novas lâminas uma da outra e deixe de molho em solução detergente por 4-8h, de preferência durante a noite.
2. Após deixar de molho, limpe os dois lados de cada lâmina, esfregando as duas superfícies com o pano ou a esponja entre o indicador e o polegar.
3. Enxágue as lâminas individualmente em água limpa para retirar o detergente.
4. Drene o excesso de água das lâminas e coloque-as no vidro de álcool com a tampa firmemente fechada. Mantenha fora da luz solar direta.
5. Quando necessário, retire uma lâmina do vidro e seque com um pano de algodão limpo e sem fiapos. Sempre manuseie as lâminas pelas bordas.
6. A lâmina está pronta para uso e não precisa ser embrulhada.

Para programas nacionais de controle da malária

Nesses programas, as atividades de diagnóstico microscópico da malária variam desde um microscopista trabalhando sozinho em um laboratório remoto com

5 O metanol (álcool metílico) é altamente tóxico e inflamável e pode causar cegueira e até a morte se ingerido em qualquer quantidade. Quando não estiver em uso, deve ser guardado em um armário com chave.

instalações precárias a grandes pesquisas epidemiológicas, estudos para monitorar a resistência a medicamentos e outras atividades de campo. Para garantir que a equipe sempre tenha os materiais corretos, as lâminas (limpas e embrulhadas), os corantes e outros insumos são geralmente preparados e fornecidos a partir de um local central. Porém, em algumas áreas rurais, a equipe do laboratório precisa limpar suas próprias lâminas ou mesmo reaproveitá-las, devido à falta de material.⁶ Nessas situações, é necessário um bom suprimento de lâminas, que devem ser preparadas, limpas e embaladas com antecedência. Isso aumenta muito a eficiência, pois garante a disponibilidade do grande número de lâminas necessário para as atividades remotas em um local distante do laboratório. É melhor fazer a limpeza em um pequeno grupo.

Você precisará de:

- lâminas para microscopia novas de qualidade “superior” ou lâminas usadas e recicladas;
- duas bacias ou tigelas plásticas de tamanho médio;
- detergente líquido ou em pó de boa qualidade;
- um pano de prato ou esponja macia;
- vários panos de algodão limpos que não soltam fiapos (do tipo usado para secar louças ou copos);
- uma fonte de água limpa;
- folhas de papel limpo cortadas em pedaços de cerca de 11 cm x 15 cm;
- caixas vazias do tipo em que as lâminas novas vêm embaladas;
- elásticos ou fita adesiva transparente; e
- um armário aquecido ou um desumidificador com sílica gel ativada.

O método:

1. Trate as lâminas novas da mesma maneira como descrito acima nas etapas 1 a 4, mas seque-as (não as guarde no álcool).
2. Mergulhe as lâminas usadas e sujas em água morna e detergente e deixe de molho por no mínimo 6 a 8h.
3. Após deixar de molho, limpe cada lâmina individualmente pelo método descrito na etapa 2 acima, até que todos os vestígios do sangue antigo e do óleo de imersão estejam removidos. Isso pode exigir mais de um molho, dependendo do estado das lâminas; daí a segunda tigela.
4. Quando as lâminas estiverem limpas, enxágue-as em água limpa para remover todos os vestígios de detergente.
5. Seque cada lâmina com um pano de algodão. Lâminas lascadas ou arranhadas não são mais adequadas para exames de sangue e devem ser desprezadas; elas ainda podem ser usadas para entomologia médica.
6. Embrulhe as lâminas secas com os pedaços de papel, fazendo pacotes ou maços de 10 lâminas cada. Dobre as extremidades do papel para baixo e prenda com fita adesiva transparente. Coloque os pacotes nas caixas de papelão, prontos para uso.

⁶ Recomenda-se o uso de lâminas novas, mas muitos programas não têm condições de comprá-las, o que torna necessário selecionar as melhores lâminas dentre as reaproveitadas.

7. Como cabem aproximadamente 10 desses pacotes em cada caixa, é fácil calcular o número de lâminas disponíveis para uso ou envio.
8. Guarde as caixas de lâminas limpas em um armário aquecido pequeno ou em um desumidificador, para garantir que elas permaneçam secas até a hora de usar. As lâminas armazenadas em temperatura ambiente num local com muita umidade aderirão umas às outras após algumas semanas e não poderão mais ser usadas, a menos que sejam lavadas e secas novamente.
9. Para controle de qualidade, rotule cada caixa com a data da limpeza e o nome da pessoa responsável pela limpeza.

Em climas quentes e úmidos, o mofo cresce rapidamente em lâminas de vidro, lentes de microscópio e prismas. A menos que isso seja evitado pelo armazenamento em local seco, o crescimento dos fungos pode tornar impossível o uso tanto de uma simples lâmina como de um microscópio complexo. Em qualquer um dos casos, você não conseguirá realizar seu trabalho com eficiência.

O facilitador descreverá “armários aquecidos” e outras maneiras de proteger artigos de vidro e microscópios contra fungos.

Leia a Unidade de aprendizagem 3 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Unidade de aprendizagem 3

Como manter registros precisos

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta Unidade de aprendizagem, você será capaz de:

- **identificar** o(s) formulário(s) e ficha(s) corretos para registrar informações sobre pacientes;
- **demonstrar** a notação de registros precisos e sem erros no formulário apropriado;
- **selecionar** a via correta de cada formulário, ou resumo preenchido, para envio ao supervisor;
- **descrever** as possíveis consequências de se misturarem as fichas de diferentes pacientes; e
- **explicar** por que as informações dos pacientes são sigilosas e não devem ser compartilhadas com pessoas não autorizadas.

É importante garantir que as informações dos pacientes sejam facilmente rastreáveis. Para tanto, devem-se registrar todas as informações apropriadas quando um paciente comparece à clínica ou é examinado em casa. A maioria das informações é armazenada em um banco de dados de computador e sua coleta exige formulários específicos, que geralmente incluem:

- a região, estado/província, distrito ou zona em que o trabalho foi realizado;
- a cidade, município ou localidade em que o paciente reside;
- a rua e o número da casa em que o paciente pode ser contatado;
- nome, sexo e idade do paciente;
- o número de cadastro do paciente, que também pode ser o número da lâmina ou do esfregaço de sangue;
- outras informações, como sintomas, temperatura corporal e peso;
- os resultados do exame do esfregaço sanguíneo, por exemplo: positivo ou negativo para parasitos da malária, espécies e estádios observados e se foram observados gametócitos de *P. falciparum*;
- qualquer tratamento antimalárico recebido antes do exame microscópico; e
- outros comentários, observações ou instruções para o clínico.

Mesmo se você não tiver um computador, os detalhes essenciais deverão ser registrados em um livro diário. Seu facilitador dará exemplos dos formulários atualmente em uso e de como preenchê-los corretamente. Você também praticará o preenchimento dos formulários em condições normais de trabalho no laboratório ou em campo.



Lembre-se:

As informações do paciente são sigilosas. Não é ético discutir informações contidas nas fichas de um paciente com pessoas não autorizadas. As fichas dos pacientes devem ser guardadas de forma segura e protegida contra o acesso não autorizado.

Leia a Unidade de aprendizagem 4 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Unidade de aprendizagem 4

Preparo dos esfregaços sanguíneos

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta unidade, você será capaz de:

- **explicar** por que o sangue sempre deve ser considerado potencialmente contaminado;
- **citar** quatro doenças encontradas no sangue infectado;
- **demonstrar** as precauções normais que devem ser tomadas ao manusear o sangue;
- **demonstrar** o que fazer quando o sangue contaminar algo acidentalmente;
- **enumerar** os materiais necessários para preparar a gota espessa e o esfregaço;
- **demonstrar** o método correto para o preparo de gota espessa e esfregaço na mesma lâmina para microscopia de rotina;*
- **demonstrar** a maneira correta de rotular um esfregaço;
- **distinguir** gotas espessas e esfregaços de qualidade aceitável daqueles com qualidade inaceitável, fundamentando a sua decisão; e
- **descrever** e identificar erros e falhas comuns no preparo da gota espessa e do esfregaço, além de suas causas.

* No mínimo 80% dos esfregaços preparados devem atingir um padrão satisfatório ou atender ao nível satisfatório definido para o seu curso.

A contaminação acidental com o sangue de um paciente coloca a equipe de saúde e os pacientes em risco potencial de várias doenças. Esses riscos serão extremamente baixos se as seguintes precauções forem tomadas:

- Use luvas de proteção ao colher amostras de sangue ou manusear sangue.
- Evite que o sangue, inclusive o sangue seco nas lâminas, entre em contato com seus dedos ou suas mãos.
- Proteja cortes ou arranhões nas mãos com um curativo à prova d'água.
- Evite picadas acidentais ao manusear instrumentos afiados que entraram em contato com sangue.
- Lave bem as mãos com água e sabão assim que terminar cada trabalho.
- Se você derramar sangue na pele, limpe-o rapidamente com um algodão embebido em álcool; depois, lave a área afetada com água e sabão o mais rápido possível.

- Materiais contaminados com sangue, como lancetas, lâminas quebradas e cotonetes, devem ser descartados em um “coletor para materiais perfurocortantes”. Se não houver um coletor desse tipo, siga a rotina estabelecida no programa e descarte os materiais com segurança por incineração.

Algumas pessoas são portadoras de doenças no sangue mesmo quando não parecem estar doentes. As doenças no sangue não são facilmente detectadas, e os exames para detectá-las às vezes são complicados e caros. Hepatite, HIV/AIDS, malária e sífilis são as mais comuns, mas outras, como a leptospirose, podem ser sazonais e comuns em determinadas áreas.

Ao manusear sangue, tome sempre as medidas preventivas corretas.

Tipos de esfregaço sanguíneo

No diagnóstico microscópico da malária, são usados dois tipos de preparação: a gota espessa e o esfregaço.

Exame da gota espessa

A gota espessa é sempre usada para procurar os parasitos da malária. Esse esfregaço consiste em muitas camadas de glóbulos vermelhos e brancos (hemácias e leucócitos). Durante a coloração, a hemoglobina das hemácias se dissolve (desemoglobinização), o que permite que grandes quantidades de sangue sejam examinadas rápida e facilmente. Os parasitos da malária, quando presentes, são mais concentrados do que no esfregaço, sendo, portanto, mais fáceis de enxergar e identificar.

Exame do esfregaço

O esfregaço é usado para confirmar a espécie do parasito da malária, quando não for possível fazer isso na gota espessa. Ele só é usado para procurar os parasitos em situações excepcionais. Um esfregaço bem preparado consiste em uma única camada de glóbulos vermelhos e brancos espalhados por menos da metade da lâmina. A extremidade fosca da lâmina é usada como rótulo. O uso do esfregaço em si para rotular não é mais recomendado. Se não houver lâminas com extremidade fosca disponíveis, a informação pode ser escrita no próprio esfregaço com um lápis de grafite macio. Não lamba a ponta do lápis durante o uso.

Preparo de gota espessa e esfregaço na mesma lâmina

Você precisará de:

- luvas de látex de boa qualidade, sem talco (dois a três pares por pessoa por exercício);
- lâminas limpas e embrulhadas (mais do que o necessário);
- lancetas estéreis (uma por paciente, mais 10%);

- álcool etílico a 70%;
- algodão absorvente;
- um coletor para materiais perfurocortantes;
- uma caixa ou bandeja para secar as lâminas na horizontal e protegê-las de moscas e poeira;
- quatro ou cinco panos de algodão limpos sem fiapo;
- fichas de registro ou um livro de cadastro;
- caneta esferográfica para preencher as fichas; e
- um lápis de grafite HB (para escrever nas lâminas) e um apontador pequeno.

O método:

Após registrar os dados do paciente na ficha ou cadastro, coloque as luvas protetoras de látex. Segure a mão esquerda do paciente, com a palma da mão voltada para cima, e selecione o terceiro dedo a partir do polegar, vulgo “anelar”. Em bebês, pode-se usar o dedão do pé, mas não o calcanhar. Nunca use o polegar, em crianças ou adultos.



Limpe o dedo com um algodão embebido em álcool. Use movimentos firmes para remover qualquer sujeira e gordura da polpa do dedo.

Seque o dedo com um pano de algodão limpo, usando movimentos firmes para estimular a circulação sanguínea.



Usando uma lanceta estéril, perfure a polpa do dedo, fazendo um movimento rápido como se estivesse “enrolando” a lanceta.

Aperte o dedo de leve para que saia a primeira gota de sangue. Tire essa gota com um algodão seco, certificando-se de que não fique nenhum fio de algodão que possa se misturar com o sangue.

Agindo rapidamente e segurando a lâmina somente pelas bordas, colete o sangue da seguinte maneira:



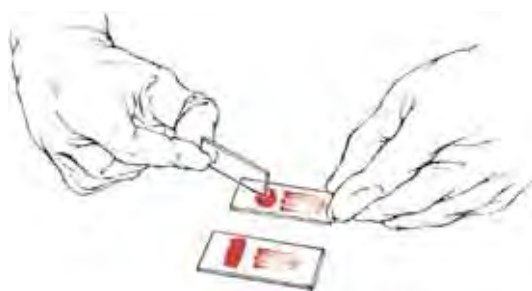
Aperte o dedo delicadamente e colete uma única gota de sangue, mais ou menos desse tamanho, bem no meio da lâmina. Essa gota é para o esfregaço.

Aperte novamente o dedo para espremer mais sangue e colete duas ou três gotas maiores na lâmina, a cerca de 1 cm da gota destinada ao esfregaço. Limpe o sangue restante do dedo com algodão.



Exame do 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, deixando o sangue correr ao longo da borda.

Empurre a lâmina distensora com firmeza ao longo da primeira lâmina, mantendo um ângulo de 45°. A borda da lâmina distensora deve permanecer em contato uniforme com a superfície da primeira lâmina enquanto o sangue estiver sendo espalhado.



Exame da gota espessa: Segurando as lâminas pelas bordas ou por um canto, use a quina da lâmina distensora para juntar rapidamente as três gotas de sangue, espalhando-as para formar uma película grossa e uniforme. Não “remexa” nem misture o sangue excessivamente. Bastam três a seis movimentos rápidos com a quina da lâmina distensora para fazer uma gota espessa circular ou retangular.

A gota espessa circular deve ter cerca de 1 cm de diâmetro. Coloque a gota espessa para secar com a lâmina plana e nivelada, longe de poeira, moscas, luz solar e calor extremo.

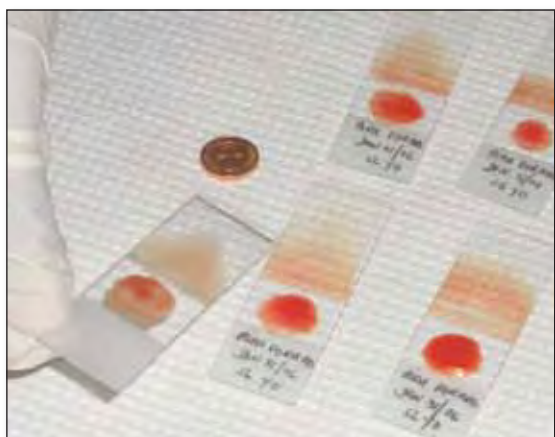


Sob condições normais, o esfregaço seca rapidamente. Antigamente, os dados do paciente, o número da lâmina e a data costumavam ser escritos com um lápis macio na parte mais grossa do esfregaço. Hoje em dia, de preferência, deve-se utilizar uma lâmina com extremidade fosca, e usar essa extremidade fosca como o rótulo. O uso do esfregaço em si para rotular não é mais recomendado.

Evite encostar instrumentos de escrita no esfregaço. Não use esferográfica ou caneta gel para rotular lâminas, pois a tinta se espalha quando o esfregaço é fixado.

Quando a gota espessa estiver completamente seca, embrulhe a lâmina na ficha de registro do paciente e encaminhe-a rapidamente para o laboratório. As lâminas que não puderem ser processadas imediatamente podem ser armazenadas em um desumidificador antes da coloração.

Se você seguiu a técnica corretamente, deve ficar pouco sangue na lâmina distensora. A lâmina distensora pode ser usada para preparar o esfregaço do próximo paciente e a próxima lâmina limpa retirada da embalagem se torna a nova lâmina distensora.



Erros comuns na confecção do esfregaço sanguíneo

Vários erros comuns na confecção de esfregaços sanguíneos podem afetar a rotulagem, a coloração ou o próprio exame. Portanto, afetarão o resultado para o paciente.

Esfregaço mal posicionado

Se o esfregaço não estiver corretamente posicionado na lâmina, pode ser impossível examiná-lo. Partes da gota espessa podem raspar nas bordas da cuba de coloração, do suporte de secagem ou no carro do microscópio.

Se o esfregaço é grande demais ou a gota espessa está posicionada incorretamente, será difícil o exame sob a objetiva de imersão em óleo.



Muito sangue

Se a gota espessa for feita com sangue em excesso, ela ficará com um fundo muito azul. Haverá glóbulos brancos demais por campo, o que pode obscurecer os parasitos presentes. Se o esfregaço ficar grosso demais, as hemácias ficarão empilhadas uma em cima da outra, impossibilitando a visualização clara dos parasitos.



Pouco sangue

Quando não há sangue suficiente na lâmina, não haverá leucócitos suficientes na gota espessa nem sangue suficiente para o exame padrão. O esfregaço geralmente será inútil para o diagnóstico da espécie.



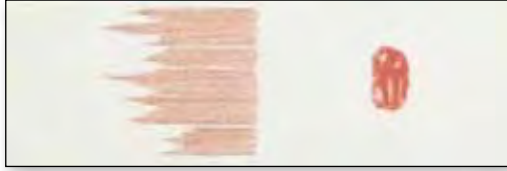
Lâmina engordurada

Se a lâmina estiver engordurada, o sangue não se espalha por igual, e partes da gota espessa se desprendem durante a coloração. A distribuição irregular do sangue dificulta o exame tanto da gota espessa como do esfregaço.



Lâmina distensora com borda lascada

Se a lâmina distensora estiver com a borda lascada, o esfregaço não se espalhará por igual, e terá muitas “caudas”. Uma lâmina distensora lascada também pode afetar o espalhamento da gota espessa.



Outros problemas no preparo, coleta ou armazenamento de esfregaços sanguíneos antes da coloração podem incluir os seguintes:

- Moscas, formigas, baratas e outros insetos consomem o sangue úmido ou já seco e danificam a lâmina. *As lâminas devem ser cobertas durante a secagem e armazenadas durante a noite em uma caixa hermética ou desumidificador com sílica gel.*
- O uso de lâminas arranhadas dificulta o exame microscópico do esfregaço. *Lâminas arranhadas ou lascadas não devem ser usadas para fazer esfregaços sanguíneos. Devem ser descartadas.*
- A secagem desigual da gota espessa causa variação na qualidade do esfregaço, dificultando o exame microscópico padrão. *As lâminas com sangue devem ser deixadas para secar em uma superfície plana e horizontal.*
- A autofixação da gota espessa ocorre quando as lâminas são armazenadas por muito tempo sem coloração em um ambiente com alta temperatura e umidade. Isso pode acontecer quando as lâminas precisam ser armazenadas antes da coloração, como lâminas coletadas para uso em coleções didáticas ou durante pesquisas em campo prolongadas. *As lâminas autofixadas ficam com uma coloração ruim, mas a autofixação pode ser evitada mantendo-se as lâminas em um desumidificador com sílica-gel. Durante o transporte, evite colocar lâminas recém-confeccionadas sob luz solar direta ou no piso do veículo, pois podem ficar sobre o escapamento quente. Para desmoglobinizar a gota espessa, deixe a lâmina de molho em água limpa, de preferência tamponada (pH 7,2), por cerca de cinco minutos, seque completamente e guarde no desumidificador.*
- Se a gota espessa não estiver completamente seca antes das lâminas serem empilhadas e armazenadas nas caixas de papelão, as lâminas grudarão uma na outra. *As lâminas devem estar completamente secas antes de serem embaladas para armazenamento ou transporte.*

Leia a Unidade de aprendizagem 5 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Anotações

Unidade de aprendizagem 5

Coloração dos esfregaços sanguíneos pelo método de Giemsa

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta unidade, você será capaz de:

- **demonstrar** o uso correto da balança analítica;*
- **preparar** a água tamponada usada para diluir o corante Giemsa;
- **demonstrar** o uso correto do comparador colorimétrico ou pHmetro;*
- **preparar** as soluções corretoras de pH a 2% usadas para ajustar o pH da água tamponada;
- **explicar** por que a água tamponada a um pH 7,2 é melhor para garantir uma boa coloração pelo método Giemsa;
- **demonstrar** dois métodos corretos de fixação de esfregaços;
- **explicar** quando os métodos de Giemsa “rápido” e “lento” são usados para diagnóstico microscópico da malária;
- **demonstrar** domínio dos métodos de Giemsa rápido e lento;
- **descrever** as maneiras corretas de manusear e armazenar o corante Giemsa; e
- **demonstrar** a correta secagem e armazenamento das lâminas coradas.

* Objetivo que se aplica apenas quando este tipo de equipamento for utilizado.

Água tamponada

Em esfregaços sanguíneos adequadamente corados, os parasitos da malária são claramente visíveis ao microscópio. Antes de fazer a coloração das lâminas, é preciso preparar a água tamponada usada para diluir o corante.

O uso de água tamponada no pH correto ajuda a garantir uma boa coloração.

O pH expressa o quanto um líquido é ácido ou básico (alcalino). É medido em uma escala de aproximadamente 0 (muito ácido) a 14 (muito alcalino). Líquidos que não são ácidos nem alcalinos são descritos como neutros, e têm um pH de 7,0. O pH de um líquido pode ser medido com um medidor de pH (pHmetro)

ou com um aparelho chamado colorímetro; um exemplo é o comparador Lovibond. As tiras indicadoras de papel (papel de tornassol) também podem ser usadas, mas são afetadas ligeiramente pela umidade ambiente e tornam-se não confiáveis.

Nesta unidade, você usará o pHmetro ou comparador recomendado pelo seu programa nacional de controle da malária.

É possível deixar a água mais ácida ou mais alcalina pela adição de certos sais denominados tampão. Eles são armazenados separadamente até serem combinados nas proporções corretas em um volume fixo de água para chegar ao pH necessário. Os sais tampão são pesados em uma balança. É importante garantir que sejam armazenados corretamente, de maneira a não absorver nenhuma umidade do ar, caso contrário, não funcionarão.

Existe o tampão em forma de comprimidos prontos disponíveis comercialmente, que fornece um pH específico quando misturado em uma quantidade fixa de água (geralmente 1 litro). Os comprimidos-tampão não precisam ser pesados e são úteis em locais com instalações limitadas. Porém, precisam ser guardados em um tubo hermético em local completamente seco, caso contrário, absorvem rapidamente a umidade e devem ser descartados. Alguns técnicos acreditam que a coloração é de pior qualidade quando se utiliza comprimidos-tampão, mas não há evidências para embasar essa percepção.

Como preparar água tamponada

Você precisará de:

- uma balança analítica com precisão de 0,01 g. Uma balança de dois pratos é ideal. Porém, há várias balanças elétricas de prato único que são fáceis de usar e adequadas;
- filtros de papel com 11 cm de diâmetro;
- um balão de vidro tipo Erlenmeyer com capacidade de 1 litro;
- um béquer de vidro com capacidade de 250 ml;
- espátulas de madeira (abaixadores de língua ou palitos de picolé são fáceis de encontrar);
- 1 litro de água destilada ou deionizada;
- fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4)

O método:

Se você estiver usando uma balança analítica tradicional de dois pratos, siga todas as etapas de 1 a 10. Se você estiver usando uma balança elétrica, siga as instruções do facilitador; você provavelmente começará na etapa 5.

1. Certifique-se de que o fiel (ponteiro) da balança esteja marcando zero. Para isso, ajuste o parafuso de regulagem no braço direito.
2. Coloque um filtro de papel em cada prato e faça a tara da balança. Para isso, mova o contrapeso de grama ao longo do braço da balança até que o fiel marque zero.

3. Mova o contrapeso de grama mais 0,7 g ao longo do braço da balança. A balança está pronta para pesar o fosfato de potássio monobásico.
4. Usando uma espátula de madeira, coloque um pouco de KH_2PO_4 no filtro de papel que está no prato esquerdo.
5. Depois de pesar, transfira o KH_2PO_4 para o béquer de vidro, adicione cerca de 150 ml de água e mexa com uma espátula limpa até o sal se dissolver.
6. Coloque um filtro de papel novo no prato esquerdo da balança.
7. Faça a tara da balança como antes, mas desta vez ajuste o contrapeso de grama para 1 g para pesar o Na_2HPO_4 .
8. Usando uma espátula limpa e seca, adicione o Na_2HPO_4 ao prato direito, equilibrando o peso conforme descrito na etapa 4 acima.
9. Após pesar, adicione o Na_2HPO_4 à solução que já está no béquer e mexa como na etapa 5.
10. Quando os sais estiverem dissolvidos, adicione a solução ao balão de Erlenmeyer e complete com água até a marca de 1 litro.

A água tamponada está pronta para o ajuste do pH a 7,2 após o preparo das soluções corretoras.

Como preparar soluções corretoras de pH a 2%

Você precisará de:

- uma balança analítica com precisão de 0,01 g ou melhor. Uma balança de dois pratos é ideal, mas uma balança elétrica de prato único serve;
- filtros de papel com 11 cm de diâmetro;
- duas garrafas ou frascos de vidro com rolha, cada uma com capacidade de 100 ou 150 ml;
- fosfato de potássio monobásico anidro (KH_2PO_4);
- fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4);
- cerca de 200 ml de água destilada ou deionizada;
- espátulas de madeira;
- dois béqueres com capacidade de 250 ml cada;
- uma proveta graduada com capacidade de 100 ml; e
- etiquetas.

O método:

1. Siga as etapas 1 e 2 do método para preparo de água tamponada. Em seguida, mova o contrapeso de grama mais 2 g ao longo do braço da balança.
2. Pese 2 g de Na_2HPO_4 e adicione a 100 ml de água em um béquer. Mexa com a espátula até que o sal se dissolva.
3. Transfira esta solução para uma das garrafas ou frascos de vidro e coloque uma etiqueta escrito " Na_2HPO_4 2%".
4. Repita as etapas 1 a 3 acima, mas desta vez use 2 g de KH_2PO_4 ; coloque uma etiqueta escrito " KH_2PO_4 2%".
5. Armazene em local fresco e longe da luz solar.

Como verificar e ajustar o pH da água tamponada

Verifique o pH da água tamponada sempre antes de usar. Para ajustar o pH, adicione pequenas quantidades das soluções corretoras: Na_2HPO_4 2% se o pH estiver abaixo de 7,2 (muito ácido) ou KH_2PO_4 2% se o pH estiver acima de 7,2 (muito alcalino). Os ajustes podem ser feitos conforme descrito abaixo:

Lembre-se:

**Existem muitos tipos de medidores de pH disponíveis.
Você aprenderá a operar o tipo usado no seu país.**

Você precisará de:

- água tamponada em um balão de Erlenmeyer;
- os dois frascos de solução corretora;
- um pHmetro ou comparador colorimétrico;
- duas cubetas de vidro para o comparador colorimétrico;
- um frasco de indicador azul de bromotimol; e
- uma pipeta graduada com capacidade de 1 ml.

O método:

1. Coloque um pouco da água tamponada a ser testada em cada uma das cubetas de vidro do comparador colorimétrico, até a marca de 10 ml.
2. Coloque uma cubeta no compartimento esquerdo do comparador colorimétrico, como célula de controle.
3. Usando a pipeta, coloque 0,5 ml de indicador azul de bromotimol na outra cubeta, misture e coloque a cubeta no compartimento direito.
4. Segurando o comparador colorimétrico contra a um fundo branco claramente iluminado, gire o disco até que sua cor seja igual à da célula direita.
5. Ajuste o pH da água no balão de Erlenmeyer adicionando gotas da solução corretora apropriada: Na_2HPO_4 para torná-la mais alcalina, KH_2PO_4 para torná-la mais ácida.

O método de coloração de Giemsa

O corante de Giemsa é um corante à base de álcool do tipo Romanowsky. Pode ser comprado pronto para uso ou fabricado em centros regionais por técnicos qualificados e, em seguida, distribuído pela rede de laboratórios do programa de controle da malária. O corante de Giemsa é uma mistura de eosina, que tingem a cromatina do parasito em tons de vermelho ou rosa, e azul de metileno, que tingem o citoplasma do parasito de azul. Os núcleos dos leucócitos são tingidos de azul escuro a quase preto, dependendo do tipo de leucócito. Isso tudo será explicado em uma unidade de aprendizado posterior.

- Algumas coisas importantes a serem lembradas com relação à solução estoque de corante Giemsa são:
- Mantenha o frasco bem fechado para evitar a evaporação do corante e sua oxidação pela umidade ambiente.

- Guarde em um frasco de vidro escuro, mantido em local fresco, seco e com sombra, longe da luz solar direta.
- Para as necessidades diárias, transfira pequenas quantidades de corante (cerca de 25 ml) para um frasco com rolha bem fechado. Isso diminui o risco de contaminação da solução estoque.
- Não adicione água à solução estoque; até uma quantidade minúscula causará deterioração do corante, tornando-o progressivamente ineficaz.
- Não agite o frasco de corante antes de usar. A agitação ressuspende os chamados precipitados, que se depositam na lâmina durante a coloração e obscurecem detalhes importantes durante a microscopia.
- Caso haja solução não utilizada ao final do dia, não a devolva ao frasco estoque nem ao frasco de uso diário. Depois que o corante estiver fora do frasco, deve ser usado rapidamente ou descartado.

Coloração dos esfregaços sanguíneos

Existem dois métodos de coloração de Giemsa: o método rápido (10%) e o método lento (3%). O método rápido é usado em ambulatórios e laboratórios movimentados, onde o diagnóstico rápido é uma parte essencial do atendimento ao paciente. O método lento é usado para corar um número maior de lâminas por vez, como em pesquisas transversais ou epidemiológicas e pesquisas de campo.

Método rápido (10%)

Esse é o método mais comum para corar de 1 a 15 lâminas por vez. É utilizado em laboratórios onde é necessário um resultado rápido para determinar se um paciente está com malária. O método é eficiente, mas consome mais corante. A necessidade de diagnóstico rápido justifica o custo adicional.

Você precisará de:

- corante de Giemsa, transferido da solução estoque para um frasco de 25 ml;
- álcool metílico;⁷
- algodão absorvente;
- tubos de ensaio com capacidade de 5 ml;
- água destilada ou deionizada, tamponada ao pH 7,2;
- uma pipeta de Pasteur com tetina (bulbo) de borracha;
- uma bandeja, cuba ou suporte côncavo para coloração, de plástico;
- um suporte ou rack para secagem das lâminas;
- um relógio temporizador (timer); e
- um pequeno secador de cabelo elétrico.

Antes de corar a lâmina, a gota espessa deve estar completamente seca. Pode-se secá-la rapidamente com ar quente de um pequeno secador de cabelo ou colocando cuidadosamente sobre uma lâmpada incandescente. Evite o superaquecimento das lâminas, pois elas podem sofrer fixação térmica, o que prejudica a coloração.

7 O metanol (álcool metílico) é altamente tóxico e inflamável e pode causar cegueira e até a morte se ingerido em qualquer quantidade. Quando não estiver em uso, ele deve ser guardado em um armário com chave.

O método:

1. Para fixar o esfregaço, dê leve batidas na lâmina com um algodão embebido em álcool metílico ou mergulhe brevemente a lâmina em álcool metílico. Evite o contato entre a gota espessa e o álcool metílico, pois o álcool metílico e seus vapores fixam rapidamente a gota espessa, prejudicando a coloração.
2. Com o corante preparado em um tubo de ensaio ou outro recipiente pequeno, prepare uma solução a 10% de Giemsa em água tamponada: coloque três gotas de Giemsa da solução estoque, usando a pipeta de Pasteur, em 1 ml de água tamponada. Cada lâmina precisa de aproximadamente 3 ml de corante para cobri-la.
3. Dependendo do recipiente que você usará para a coloração (cuba, bandeja ou suporte), coloque as lâminas a serem coradas com a face voltada para baixo (em cuba côncava) ou para cima (em bandeja ou suporte).
4. Se estiver usando uma cuba, despeje o corante delicadamente na cuba até que cubra as lâminas; se estiver usando uma bandeja ou suporte, derrame o corante diretamente sobre as lâminas.
5. Deixe as lâminas corando por 8 a 10 minutos. Com o tempo, você vai adquirir experiência que o ajudará a decidir o tempo exato necessário para uma boa coloração.
6. Remova delicadamente o excesso de corante da lâmina com água limpa, pingando gota a gota. Não derrame o excesso de corante diretamente para fora da lâmina, pois isso deixa um depósito de espuma verde metálica grudada na lâmina, impossibilitando o exame ao microscópio.
7. Quando o excesso de corante tiver sido removido, coloque as lâminas em um escorredor ou suporte, com o lado do sangue para baixo, para secar. Certifique-se de que a gota espessa não raspe na borda do escorredor ou suporte.

Método lento (3%)

Esse método é menos apropriado quando se precisa de um resultado rápido, mas é excelente para corar lâminas em grande quantidade (20 ou mais por vez). É ideal para corar lâminas de levantamentos epidemiológicos, para pesquisa ou para uso didático. O desempenho é melhor se as lâminas tiverem secado da noite para o dia. Esse método é econômico, porque usa muito menos corante (3% em vez de 10%).

Você precisará de:

- corante de Giemsa;
- álcool metílico;⁸
- algodão absorvente;
- cubas de coloração em número suficiente para 20 lâminas, dispostas uma após a outra;
- água tamponada em pH 7,2;
- uma proveta graduada com capacidade de 100 a 500 ml;
- uma proveta graduada com capacidade de 10 a 25 ml;
- um balão ou béquer (a capacidade dependerá da quantidade de corante a ser preparada);
- um relógio temporizador (timer); e
- um suporte ou rack para secagem das lâminas.

8 O metanol (álcool metílico) é altamente tóxico e inflamável e pode causar cegueira e até a morte se ingerido em qualquer quantidade. Quando não estiver em uso, ele deve ser guardado em um armário com chave.

O método:

1. Para fixar o esfregaço, dê leves batidas na lâmina com um algodão embebido em álcool metílico ou mergulhe a lâmina em álcool metílico por alguns segundos. Evite o contato entre a gota espessa e o álcool metílico, pois o álcool metílico e seus vapores fixam rapidamente a gota espessa, prejudicando a coloração.
2. Coloque as lâminas uma de costas contra a outra em uma cuba de coloração, certificando-se de que todas as gotas espessas estejam juntas em uma extremidade da cuba.
3. Prepare uma solução de Giemsa a 3%: adicione 3 ml da solução estoque de Giemsa a 97 ml de água tamponada a pH 7,2 (ou use múltiplos dessas quantidades).
4. Despeje o corante na cuba. Não o derrame diretamente sobre as gotas espessas, pois elas podem descolar das lâminas.
5. Deixar corar por 45 a 60 min; conforme você adquire experiência, aprenderá o tempo correto.
6. Derrame água limpa na cuba delicadamente para remover a “espuma” iridescente que fica sobre as lâminas. Para não danificar as gotas espessas, derrame a água pela extremidade da cuba onde estão os esfregaços. Uma maneira menos satisfatória de lavar as lâminas é mergulhar a cuba inteira em uma bacia cheia de água limpa e evitar a “espuma” ao retirar a cuba da bacia.
7. Com cuidado, drene o corante que tiver sobrado e enxágue com água limpa.
8. Remova cuidadosamente as lâminas, uma a uma, e coloque no escorredor para secar com o lado do sangue voltado para baixo. Certifique-se de que as gotas espessas não encostem na borda do escorredor.

Durante a coloração com Giemsa (a 3% ou 10%), a superfície toda fica coberta com uma espuma verde-metálica. Evite o contato dessa espuma com os esfregaços durante o enxágue, pois isso pode prejudicar o exame.

Cuidados com a vidraria e com os equipamentos de medição

As provetas, pipetas, cubas de coloração e béqueres devem ser limpos e secos antes do uso. O uso de utensílios sujos para a coloração de lâminas fornece resultados insatisfatórios.

O equipamento usado para a coloração de Giemsa deve ser lavado em água limpa imediatamente após o uso, para remover o máximo possível do corante. Em seguida, deve ficar de molho por um tempo em uma solução de detergente antes da lavagem. A lavagem dos utensílios com detergente neutro é satisfatória, desde que sejam muito bem enxaguados com água limpa antes da secagem. Qualquer detergente deixado no vidro ou no plástico pode alterar o pH da água e do corante, o que interfere na coloração quando o equipamento for usado em seguida.

Leia a Unidade de aprendizagem 6 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Unidade de aprendizagem 6

0 microscópio

Objetivos de aprendizagem

Ao final desta unidade, você será capaz de:

- **demonstrar** o ajuste e uso correto do microscópio binocular, com luz artificial e com luz natural;
- **demonstrar** o uso correto do par de lentes oculares 10× e da objetiva de imersão em óleo 100×;*;
- **operar** corretamente a platina mecânica do microscópio;
- **nomear** corretamente 10 componentes do microscópio;
- **descrever** a maneira correta de manter um microscópio em boas condições de funcionamento;
- **descrever** duas maneiras de armazenar um microscópio corretamente; e
- **demonstrar** a maneira correta de embalar um microscópio para transporte de longa distância.

* Ou oculares com ampliação 7×, se forem usadas no programa

Para um diagnóstico microscópico eficiente da malária, aprenda a usar o microscópio corretamente; conheça suas limitações e como mantê-lo em boas condições de funcionamento.

Os microscópios monoculares têm uma única lente ocular. Eles são mais úteis onde não há eletricidade. A luz do dia é suficiente para proporcionar um campo microscópico bem iluminado para o microscópio monocular. Os microscópios binoculares, com duas oculares, substituíram os monoculares porque são mais confortáveis de usar, mas a luz do dia não fornece iluminação suficiente para esses microscópios.

O microscópio que você usará durante o treinamento e quando voltar ao seu serviço é chamado de microscópio binocular composto. Para o diagnóstico microscópico da malária, o ideal é usar um microscópio equipado com um par de oculares 10× e uma objetiva de imersão em óleo 100×.⁹

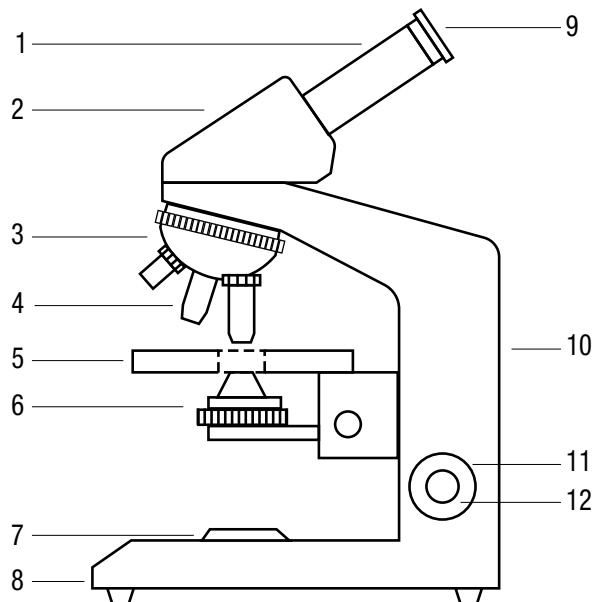
Para garantir os padrões elevados de iluminação necessários para a o diagnóstico de rotina da malária com microscópio binocular, é essencial ter uma fonte boa e

9 Alguns programas preferem usar um par de oculares com ampliação 7×, mas elas são difíceis de obter. A ocular 7× cobre mais sangue por campo e, portanto, é considerada mais sensível por alguns microscopistas.

confiável de luz artificial. Se não houver fornecimento constante de eletricidade, pode-se usar um gerador. Porém, garantir até mesmo um pequeno gerador e combustível pode ser difícil para clínicas em locais remotos, e os custos operacionais elevados tornam esse método inaceitável. Os diodos emissores de luz (mais conhecidos como LEDs), que agem pelo princípio da eletroluminescência e funcionam com pilhas e baterias pequenas e de baixa voltagem, são uma fonte mais barata e prática de luz artificial para microscopia. As baterias podem ser carregadas por um pequeno painel solar montado em um poste ou no teto do laboratório. Vários produtos desse tipo estão disponíveis no mercado. A maioria é acessível, fácil de usar e requer pouquíssima manutenção. Seu facilitador discutirá esse assunto em mais detalhes, dependendo do quanto for importante para você e para o programa.



A luz de LED aqui ilustrada funciona por no mínimo 200 horas com quatro pilhas padrão de 1,5 volts.



Partes do microscópio binocular composto

A figura acima mostra as partes principais de um microscópio binocular composto típico.

1 e 2. Tubo (ou canhão) e cabeçote

Chamados conjuntamente de “cabeça” do microscópio, o tubo (ou canhão) e o cabeçote são projetados para se inclinarem em direção ao usuário. Por isso, diz-se

que o microscópio tem um “cabeçote inclinado”. Prismas de vidro polido dentro do cabeçote inclinado desviam a luz para que a imagem chegue até os olhos do usuário através do par de oculares.

3. Revólver (porta-objetivas)

Três ou quatro lentes objetivas de diferentes ampliações ficam rosqueadas no revólver, ou porta-objetivas. A cada volta do revólver, ele coloca uma objetiva diferente sobre a amostra, alinhada com as oculares, o que aumenta ou diminui a ampliação da amostra.

4. Lentes objetivas

Todas as partes do microscópio são importantes, mas as objetivas devem ser tratadas com cuidado especial. Cada objetiva contém duas ou mais lentes, que são fixas com uma cola especial. Solventes como álcool, xilol e acetona podem dissolver a cola que mantém a lente no lugar, e não devem ser usados jamais para limpar as objetivas ou qualquer outra parte do microscópio.

As objetivas são referidas pelo seu poder de ampliação, que geralmente vem escrito na lateral do corpo da lente. Cada microscópio geralmente possui três objetivas: uma 10×, uma 40× e uma 100×. A objetiva 100× é chamada de “objetiva de imersão em óleo”, e é facilmente identificada por um anel preto, vermelho ou branco no corpo.

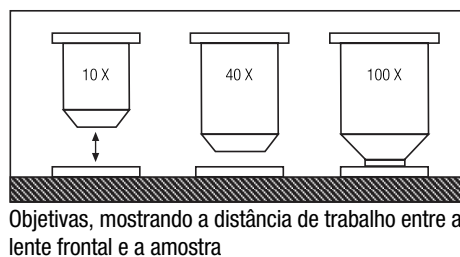
Ao examinar uma objetiva, você perceberá que o tamanho da lente frontal diminui com o poder de ampliação. A distância de trabalho entre a lente frontal e a amostra focalizada na platina muda conforme a ampliação. Assim, quanto maior o poder de ampliação da objetiva, menor a distância de trabalho. Portanto, deve-se tomar cuidado para não danificar a amostra com a objetiva.

Embora possa haver pequenas variações de acordo com o fabricante, a distância de trabalho de cada objetiva é de aproximadamente:

x10 15.98 mm

x40 4.31 mm

x100 1.81 mm (imersão em óleo)



Deve-se tomar muito cuidado ao usar o microscópio, pois as amostras, as lâminas e até as objetivas podem ser danificadas facilmente por manipulação grosseira ou ao trocar de uma objetiva para a seguinte.

5. Platina mecânica (ou mesa)

A platina mecânica mantém a lâmina segura, permitindo que as amostras sejam movidas sem sobressaltos. Uma escala bilateral mostra a posição da amostra e o movimento dela durante o exame. Essa escala é chamada de escala Vernier, ou nônio. Você usará essa escala para identificar partes do esfregaço que precisem ser reexaminadas ou mostradas para outras pessoas. Nos microscópios binoculares

modernos, é a platina que se move quando a amostra entra em foco. Em microscópios mais antigos, o tubo e o cabeçote se movem durante o ajuste de foco.

6. Condensador, diafragma-íris e porta-filtro

O condensador consiste em várias lentes que centralizam a luz vinda da fonte ou do espelho em um ponto central no campo microscópico. O condensador pode ser elevado ou abaixado para aumentar ou diminuir a iluminação.

Dentro do condensador fica o diafragma-íris, usado para controlar a quantidade de luz que passa através do condensador. O diafragma é feito de várias folhas finas de metal entrelaçadas, que são ajustadas com uma pequena alavanca.

Abaixo do diafragma fica o porta-filtro, no qual é colocado um filtro azul de vidro fosco sempre que a iluminação é à base de luz elétrica. Isso deixa o campo microscópico branco em vez de amarelo.

O procedimento de ajuste para obter a iluminação correta no microscópio, chamada iluminação de Köhler, é importante para uma resolução e contraste ideais; garante um campo uniformemente iluminado, tira o excesso de brilho e reduz o aquecimento da amostra, conforme descrito no CD-ROM incluído.

7. Iluminador

Os microscópios modernos têm um iluminador fixo, no qual um espelho de prisma embutido transmite a luz para o campo microscópico. Outros possuem um iluminador removível, que pode ser substituído por um espelho onde não houver eletricidade.

O espelho é usado para direcionar a luz da fonte de luz para o campo do microscópio. Possui dois lados: um plano e o outro côncavo. A superfície plana é usada com o condensador. O lado côncavo é usado sem condensador, pois a própria superfície curva atua como condensador.

8. Base (pé)

Para evitar que o microscópio se mexa ou fique bambo, a base ou pé do microscópio deve ser sólida e deve repousar sobre uma superfície plana e firme. O formato da base pode variar. A maioria dos microscópios possui um furo rosqueado na parte inferior da base, que aceita um parafuso de fixação para manter o microscópio fixo na caixa durante o transporte.

9. Ocular

A parte superior do tubo (canhão) dos microscópios modernos é equipada com um cabeçote binocular, ou seja, com duas oculares: uma para cada olho. Hoje em dia, os microscópios monoculares raramente são usados em programas nacionais de controle da malária.

A ocular se encaixa na extremidade superior do canhão, e o microscopista olha através dela ao usar o microscópio. O poder de aumento de cada ocular está marcado nela. O “poder de aumento”, ou ampliação, é o número de vezes que a ocular amplia a imagem produzida pela objetiva. Por exemplo, com oculares de 10× e uma objetiva de imersão em óleo de 100×, a ampliação total da amostra seria de

$10 \times 100 = 1000$ diâmetros. A ampliação na verdade é ligeiramente maior, mas 1000 é um número preciso o suficiente para nossos propósitos.

Há oculares disponíveis com vários aumentos, desde $5\times$ até $25\times$ ou mesmo $30\times$. Para o diagnóstico microscópico da malária, geralmente são utilizadas oculares de $6\times$ a $10\times$. Um programa grande usa oculares de $5\times$ há muitos anos. Hoje em dia, $10\times$ provavelmente é a potência mais usada. É altamente recomendável que os programas de controle da malária usem oculares de $7\times$ e $10\times$ para microscopia de rotina.

Como um microscópio binocular sempre usa duas oculares, é mais correto falar em “par de oculares”. A marcação “ $\times 10P$ ” na borda de uma ocular $10\times$ indica que ela é apenas uma de um par de oculares.

10. Braço (estativa)

O braço, ou estativa, forma um suporte rígido para o tubo e a platina do microscópio. É robusto e pode ser usado como alça para carregar o microscópio. Ao carregar um microscópio pelo braço, sempre apoie a base do microscópio com a outra mão.

11 e 12. Botões macrométrico e micrométrico

Os dois botões coaxiais de ajuste, macrométrico e micrométrico, são usados para focalizar a amostra que está sendo examinada. O macrométrico é usado para movimentos verticais rápidos, relativamente amplos, enquanto o micrométrico serve para dar o foco mais preciso necessário ao usar objetivas de maior potência. Nos microscópios modernos, os coaxiais sobem e descem a platina. Em microscópios antigos, eles sobem e descem o tubo ou canhão.

Geralmente, examina-se uma amostra primeiro com o macrométrico e depois em mais detalhes com o micrométrico.

O macrométrico é usado de maneira diferente quando usamos a objetiva de imersão em óleo, o que será explicado em uma unidade de aprendizagem mais adiante.

Uso do microscópio

Nas sessões práticas, todos os recursos do microscópio serão usados e conhecidos. Logo de início, você verá a imagem da amostra aumentar à medida que a ampliação for aumentada. Isso ocorre quando você troca de objetiva. Você também examinará objetos do cotidiano e verá como eles são diferentes ao microscópio. Esses exercícios foram elaborados para que você aprenda a ajustar a iluminação corretamente e a usar o condensador e o diafragma-íris. Você também praticará o uso da platina e da escala Vernier.

A fonte de luz

É necessária uma boa fonte de luz artificial para examinar as amostras adequadamente. Uma luz muito forte ou muito fraca interfere no diagnóstico microscópico da malária.

Quando a objetiva de imersão em óleo do microscópio binocular é usada na rotina do serviço, a fonte de luz deve ser elétrica, alimentada pela rede ou por um gerador. As fontes de luz LED à bateria ou pilha são uma alternativa útil onde não houver luz elétrica e devem ser direcionadas ao espelho. A luz artificial do LED atravessa o espelho, seguindo um caminho determinado:

Fonte → espelho → condensador e diafragma → amostra → objetiva → oculares

Sempre que for usada luz artificial, deve-se colocar um filtro azul entre a fonte de luz e o condensador. Nesse caso, usa-se o lado plano do espelho.

A luz do dia só deve ser usada em caso de emergência. Quando a luz do dia for usada como fonte de luz, deve-se utilizar o espelho côncavo, sem condensador. É perigoso apontar o espelho diretamente para o sol para obter iluminação, pois isso pode causar grave dano aos olhos do microscopista.

Como obter uma iluminação uniforme

Usando um par de oculares 10× e uma objetiva 10×:

1. Coloque a lâmina na platina, com a amostra diretamente sobre a abertura central da platina.
2. Use o macrométrico para colocar a amostra em foco.
3. Certifique-se de que o diafragma esteja completamente aberto e levante o condensador até que o campo microscópico fique mais claro.
4. Remova as oculares e, olhando para o tubo, ajuste o espelho (se estiver sendo usado) até que a lente objetiva esteja totalmente iluminada.
5. Recoloque as oculares. Use o micrométrico para melhorar o foco na amostra.
6. Remova as oculares novamente e feche devagar o diafragma até que a abertura da objetiva fique dois terços visível. A amostra aparecerá mais claramente, com a resolução máxima.
7. Recoloque as oculares e gire o revólver para selecionar a objetiva que você pretende usar. Cada vez que você trocar de objetiva, deve ajustar o foco novamente.
8. Se a intensidade da fonte de luz for constante, para ajustar a iluminação basta aumentar ou diminuir a abertura do diafragma. Em alguns microscópios, é possível ajustar a intensidade da luz da lâmpada.

Como usar a objetiva de imersão em óleo

Ao preparar o microscópio para microscopia de imersão em óleo:

1. Ajuste a iluminação como descrito acima; depois, observe os próximos passos pela lateral do microscópio.
2. Usando o botão de ajuste macrométrico, abaixe a platina, afastando-a da objetiva.
3. Coloque a lâmina na platina, com o lado do sangue voltado para cima.
4. Certifique-se de que haja espaço suficiente entre a platina e a objetiva 100×. Gire o revólver até que a objetiva 100× esteja sobre a amostra.
5. Pingue uma ou duas gotas de óleo de imersão na área da lâmina a ser examinada.

6. Usando o macrométrico, mova a platina até que a objetiva esteja em contato com o óleo de imersão. Suba um pouco a platina, certificando-se de que a lente e o óleo permaneçam em contato.
7. Olhando pelas oculares, focalize a amostra com o micrométrico. Certifique-se de que a lente não encoste na lâmina. Ajuste o diafragma para corrigir a iluminação.

O óleo de imersão é usado entre a lâmina para microscopia e a lente objetiva para reduzir a dispersão da luz transmitida. O óleo deve reproduzir as propriedades ópticas do vidro usado para as lentes e, portanto, deve ter um índice de refração de 1,515, que é aproximadamente 1,5 vezes o índice de refração da água.

Os óleos de imersão disponíveis no mercado podem ser limpos da lente objetiva com um pano de algodão macio. Não use este pano para limpar outras lentes. O óleo de imersão que fica no esfregaço sanguíneo pode ser retirado suavemente com o solvente recomendado pelo fabricante, ou a lâmina podem ser colocadas com o lado do sangue para baixo sobre um papel absorvente limpo e branco que irá absorver o óleo. Alguns laboratoristas tiram o óleo dos filmes esfregando com papel absorvente, mas esse método é muito bruto e não é recomendado. Outro método é enrolar as lâminas examinadas em um papel absorvente branco (papel higiênico serve), com uma camada de papel entre cada lâmina. Depois de alguns dias, quando o papel tiver absorvido o óleo, as lâminas podem ser retiradas. Não se deve jamais usar papel colorido, pois geralmente é ácido e removerá a coloração do esfregaço sanguíneo.

Cuidados com o microscópio

Desde que você cuide dele normalmente e use o bom senso, seu microscópio permanecerá em boas condições por muitos anos.

Como eliminar poeira e gordura

Durante o dia, quando o microscópio não estiver em uso, ele deve ser mantido coberto com um pano limpo ou uma capa plástica para proteger as lentes da poeira. Durante a noite, ou se o microscópio permanecer sem uso por muito tempo, ele deve ser guardado em sua caixa original, com a tampa bem fechada. Para proteger as lentes objetivas, a objetiva 10× deve ser girada até se alinhar com a ocular.

A gordura dos cílios, da pele do rosto e dos dedos é facilmente depositada nas lentes e oculares durante o uso. Essas partes do microscópio devem ser limpas cuidadosamente com um lenço próprio para lentes ou um pano macio de algodão.

As objetivas de imersão em óleo devem ser limpas imediatamente após o uso. Caso contrário, o óleo engrossará e endurecerá com o tempo, inutilizando a objetiva. Para evitar mais transferência de gordura, nunca use panos sujos para limpar outras objetivas, oculares ou o espelho.

Como prevenir o crescimento de fungos

Em climas quentes e úmidos, os fungos crescem facilmente nas lentes e prismas. O crescimento de fungos causa problemas e pode se tornar sério a ponto de inutilizar o microscópio. Nesses casos, as superfícies afetadas podem precisar ser

limpas e repolidas — um trabalho geralmente realizado pelo fabricante, o que leva tempo e pode ser caro.

- Os fungos não crescem em superfícies de vidro quando a atmosfera está seca. Portanto, é importante armazenar o microscópio em condições secas quando não estiver em uso. Um dos seguintes métodos deve ser usado.
- Mantenha o microscópio em um “armário aquecido”, que é simplesmente um armário com a porta bem fechada dotado de duas ou mais lâmpadas incandescentes de 25 watts (dependendo do tamanho do armário) constantemente acesas. A temperatura dentro do armário deve ser constante, de 30 a 35 °C, e a umidade baixa.
- Guarde todas as lentes e prismas em uma caixa hermética ou desumidificador que contenha sílica gel ativa, uma substância dessecante que absorve o vapor d’água do ar. O gel de sílica autoindicativo é azul quando está ativo e vai ficando cor-de-rosa conforme absorve o vapor d’água. Quando o rosa estiver bem forte, pode ser reativado por aquecimento e estará pronto para uso novamente (depois de esfriar) quando ficar azul claro.
- Se possível, guarde o microscópio em uma sala com ar condicionado ligado continuamente. Salas com ar condicionado somente durante o dia ou em horário comercial não servem.

Como transportar o microscópio

Ao transportar o microscópio entre laboratórios ou para trabalho de campo, é importante garantir que esteja devidamente preso dentro de sua caixa. A melhor maneira de fazer isso é rosquear o parafuso de retenção na base ou pé do microscópio, através do furo que passa pela parte inferior da caixa. Quando parafusado corretamente, o microscópio permanece fixo na caixa mesmo ao trafegar em estradas acidentadas.

Leia a Unidade de aprendizagem 7 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Unidade de aprendizagem 7

Exame dos esfregaços sanguíneos

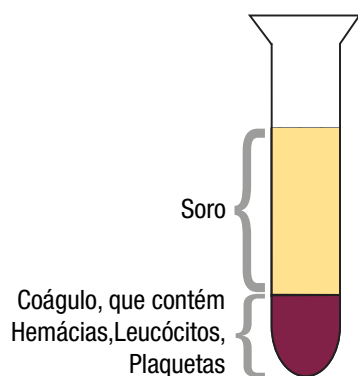
Objetivos de aprendizagem

Ao seguir cada etapa desta Unidade de aprendizagem, você será capaz de:

- **enumerar** os elementos figurados do sangue normal;
- **demonstrar** cada método usado para examinar a gota espessa e o esfregaço em busca de parasitos da malária;
- **reconhecer** e classificar os elementos normais do sangue;
- **nomear** corretamente as principais partes de um glóbulo branco (leucócito); e
- **reconhecer** contaminantes comuns em esfregaços sanguíneos.

Obs.: Não há padrões de exatidão definidos para estes objetivos de aprendizagem. O instrutor designará os níveis de exatidão esperados conforme a competência dos alunos e os métodos de avaliação durante este curso.

Elementos figurados do sangue normal



O sangue retirado diretamente de uma veia e coletado em um tubo de ensaio é um líquido vermelho. Depois de repousar de 5 a 20 minutos, o sangue se separa em duas camadas, como no diagrama. A camada sérica, ou soro, é um fluido amarelo pálido; o coágulo é uma substância semissólida que fica vermelha escura ou quase preta. O coágulo contém glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos), glóbulos brancos (leucócitos) e plaquetas. Essas células, chamadas elementos figurados, são muito pequenas e só podem ser vistas com o auxílio do microscópio em um esfregaço feito com sangue colhido fresco, secado e corado.

Quantidades de sangue maiores do que as obtidas com uma picada no dedo são geralmente colhidas diretamente em um tubo tratado com anticoagulante, uma substância que impede a coagulação do sangue. O sangue coagulado é inútil para a maioria dos exames de laboratório. Os esfregaços feitos com sangue anticoagulado devem ser manuseados com cuidado, pois o sangue adere mal à lâmina. Alguns anticoagulantes alteram ligeiramente o pH, o que pode afetar a qualidade da coloração. Se uma amostra de sangue anticoagulado for deixada na bancada

ou na geladeira por mais de 1 ou 2 horas, a morfologia de elementos como leucócitos, plaquetas e parasitos pode mudar, dificultando o diagnóstico.

Como são os elementos normais do sangue?

O aspecto normal dos vários elementos figurados na gota espessa e no esfregaço é sempre ligeiramente diferente de uma lâmina para outra, e é importante conseguir reconhecê-los.

Sangue no esfregaço corado pelo método de Giemsa

Um esfregaço examinado com a objetiva de imersão em óleo 100× e a ocular 10× conterá glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos), glóbulos brancos (ou leucócitos) e plaquetas (ou trombócitos).

Hemácias

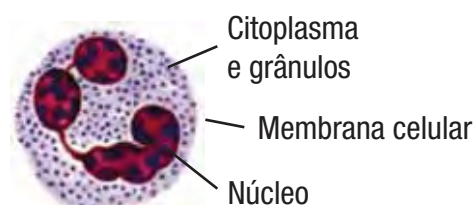
A hemácia, ou eritrócito, tem o formato de um disco bicôncavo. É a célula mais abundante no esfregaço. Existem cerca de 5 milhões de hemácias em cada microlitro (μl) de sangue. Corada pelo método de Giemsa, a hemácia parece um disco acinzentado a rosa-claro com cerca de 7,5 μm de diâmetro. A hemácia não possui núcleo. Algumas células podem parecer maiores que as hemácias normais (normócitos); raramente, algumas podem até parecer ovaladas.



Leucócitos

O número de glóbulos brancos, ou leucócitos, por microlitro de sangue é normalmente de 6 mil a 8 mil, ou seja, há muito menos leucócitos do que hemácias. Esse número pode variar bastante sob certas condições e de indivíduo para indivíduo. Existem vários tipos de leucócitos. Cada um absorve a coloração de maneira diferente, então fica fácil distingui-los com a prática. A ilustração a seguir mostra as várias partes de um leucócito típico.

Leucócito



Cada leucócito possui um núcleo cercado por citoplasma e, às vezes, o citoplasma é granular. Alguns leucócitos têm um núcleo “multilobado”, como mostra a ilustração acima. Os leucócitos são divididos em dois grupos: polimorfonucleares e mononucleares.

Leucócitos polimorfonucleares

Os *neutrófilos* perfazem 65% do total de leucócitos de uma pessoa saudável. Eles possuem grânulos bem definidos no citoplasma, e seus núcleos se coram de um

tom forte de roxo. Quando um parasito da malária está presente, os neutrófilos podem conter “pigmento malárico”, que é um subproduto do metabolismo do parasito e é tudo o que sobra dos parasitos que foram fagocitados (engolidos ou comidos) pelos neutrófilos. O pigmento malárico tem cor de castanho dourado a quase preto. Ele não absorve o corante de Giemsa.

Os **eosinófilos** perfazem de 1 a 4% do total de leucócitos de uma pessoa saudável. Os grânulos são de uma cor rosada peculiar (“eosina”) e são um bom indicador da qualidade da coloração. O número de eosinófilos pode aumentar drasticamente em doenças como asma, helmintíase (verminoses) e outras infecções e alergias. Quando a porcentagem de eosinófilos é de 8% ou mais (eosinofilia), isso deve ser registrado e relatado ao médico.

Os **basófilos** são raros, representando menos de 1% do total. Eles são vistos no microscópio como grandes grânulos azuis ou lilás no citoplasma após a coloração por Giemsa.

Leucócitos mononucleares

Os **monócitos** são os maiores leucócitos, medindo 12 a 18 μm de diâmetro. O núcleo é grande e tem formato de rim ou feijão e seu citoplasma pode conter alguns grânulos rosados ou vermelhos. Os monócitos representam de 2 a 10% do total de leucócitos e, como os neutrófilos, fagocitam ativamente os parasitos da malária.

Os **linfócitos** ocorrem em dois tipos, grandes e pequenos; juntos, eles representam de 20 a 45% do total de leucócitos. O núcleo de um linfócito grande é redondo e lilás profundo. A grande área do citoplasma se cora de azul claro, cor de água, e pode conter alguns grânulos lilás. Os linfócitos pequenos são um pouco maiores que uma hemácia normal. Há pouco citoplasma ao redor do núcleo, que se cora de azul escuro (às vezes quase preto).

Plaquetas

As plaquetas são corpos pequenos, de formato irregular, sem núcleo, mas com finos grânulos vermelhos sobre um fundo azulado. Assim como os eosinófilos, as plaquetas podem ser usadas como indicadores sensíveis da qualidade da coloração. Há cerca de 100 mil plaquetas por microlitro de sangue. Elas geralmente ocorrem em grupos de 5 a 10, mas formam aglomerados maiores se o esfregaço foi mal feito. Microscopistas inexperientes podem confundi-las com os parasitos da malária.

Sangue na gota espessa corada pelo método de Giemsa

Quando uma gota espessa corada pelo método de Giemsa é examinada com a objetiva de imersão em óleo 100 \times e a ocular 10 \times , o microscopista verá restos de hemácias, leucócitos e plaquetas. Os leucócitos e as plaquetas têm o mesmo aspecto que no esfregaço, mas o citoplasma ao redor dos núcleos não é visível.

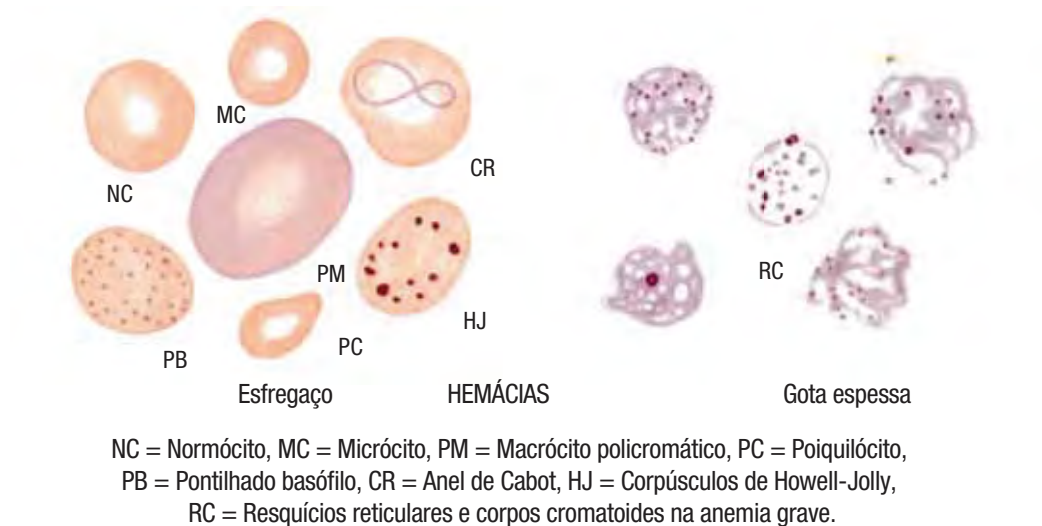
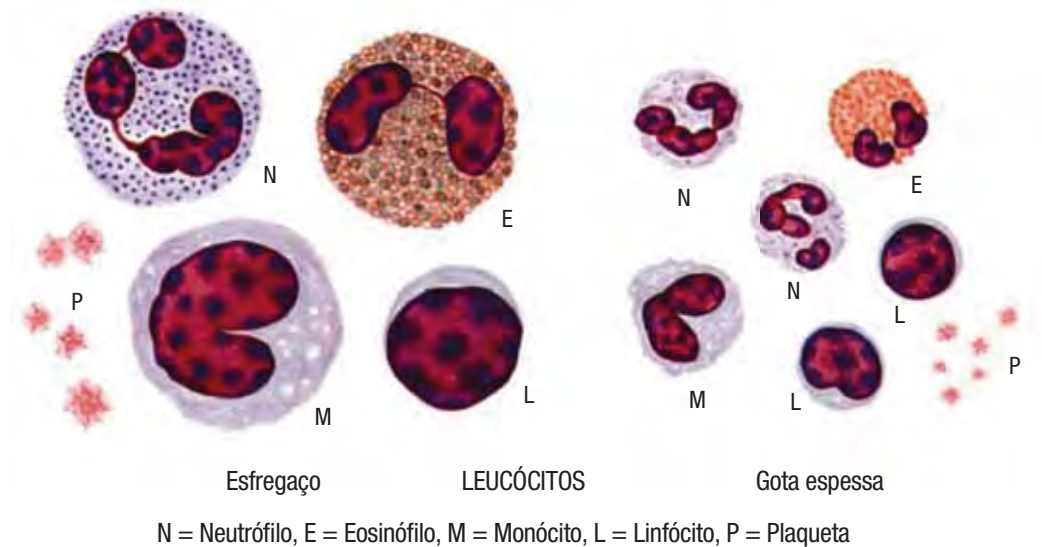
A gota espessa de sangue consiste em várias camadas de hemácias desmembradas uma sobre a outra, formando uma massa grossa. Quando a gota espessa passa pelo processo de coloração, a água do corante ataca as hemácias não fixadas, e a hemoglobina das células se dissolve na água. Esse processo se chama “desmembramento”. É fácil de observar colocando uma lâmina com gota espessa não

corada em uma placa de Petri com água limpa. Assim que a lâmina entra na água, a hemoglobina vermelha começa a se diluir, deixando a gota espessa pálida e opaca dentro de alguns minutos. Isso também ocorre durante a coloração; ao final do processo de coloração, só restam as sobras das hemácias, leucócitos e plaquetas.

As ilustrações a seguir ajudarão a identificar as hemácias, os diferentes tipos de leucócitos e as plaquetas. Até você adquirir experiência na identificação, confirme cada classificação com o facilitador. Você deve ter notado que essas ilustrações, assim como a maioria neste manual, são desenhos coloridos. Isso ocorre porque, de início, não é fácil reconhecer elementos sanguíneos corados ao microscópio. Os desenhos coloridos facilitam esse processo. À medida que você adquire experiência, provavelmente deixará de consultar os desenhos e passará a consultar as microfotografias (fotografias tiradas no microscópio) contidas nas *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária*.

Nos exercícios a seguir, você também se familiarizará com artefatos e contaminantes do sangue. Eles podem dificultar a detecção dos parasitos da malária, mas você encontrará cada vez menos dificuldade à medida que ganha experiência. Os artefatos e contaminantes do sangue também são tratados na Unidade de aprendizagem 8.

Aspecto dos elementos do sangue na gota espessa e no esfregaço



Artefatos e contaminantes que podem confundir o diagnóstico



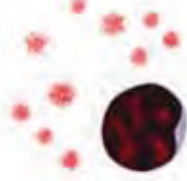
Manchas e resíduos cromatóides derivados de hemácias jovens na anemia grave



Grupos isolados de grânulos eosinofílicos



Plaquetas. Linfócito para comparação de tamanho



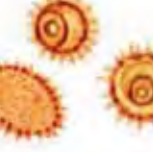
ELEMENTOS DO SANGUE



BACTÉRIAS



ESPOROS



CÉLULAS VEGETAIS

Hifas e esporos FUNGOS



Partículas de sujeira



Cristais do corante de Giemsa



Arranhões na lâmina



Cavidades/fissuras em lâmina devitrificada

MISCELÂNEA

Leia a Unidade de aprendizagem 8 para se preparar para a próxima sessão.

Anotações

Unidade de aprendizagem 8

Exame do esfregaço sanguíneo para pesquisa do parasito da malária

Objetivos de aprendizagem

Ao seguir as etapas desta Unidade de aprendizagem e atender aos padrões estabelecidos para o seu curso, você será capaz de:

- **nomear** corretamente as partes do parasito da malária;
- **distinguir** parasitos da malária em gota espessa e em esfregaço, identificando os diferentes estádios — trofozoítos, esquizontes e gametócitos;
- **identificar**, em gota espessa e em esfregaço, quatro espécies de parasitos que causam a malária humana: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*;
- **descrever** e demonstrar, em gota espessa e em esfregaço, as principais diferenças morfológicas entre quatro espécies de parasitos que causam malária humana;
- **demonstrar** contaminantes que comumente ocorrem nos esfregaços sanguíneos e são confundidos com elementos do sangue ou parasitos da malária;
- **reconhecer** e nomear outros hemoparasitos comuns em humanos na sua região; e
- **descrever** maneiras de impedir que certos artefatos contaminem os esfregaços sanguíneos.

A exatidão continua sendo um elemento importante do seu trabalho. Para alcançar e manter os níveis definidos de qualidade, você terá que examinar muitos esfregaços para praticar e ganhar experiência. Além da orientação dada pelo seu facilitador, esta Unidade de aprendizagem contém uma ampla variedade de diagramas, e você também pode consultar as microfotografias das *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária*. Isso o ajudará a trabalhar por conta própria antes de confirmar o diagnóstico final com o facilitador.

Embora o nível de exatidão esperado dos alunos deste curso tenha sido definido separadamente¹⁰, e não será descrito aqui, o nível será de 90% para distinguir os parasitos da malária em gota espessa e esfregaço e identificar os estádios de trofozoíto, esquizonte e gametócito e de 80% para identificar as quatro espécies de parasitos que causam a malária humana. O nível atingido pelos alunos será avaliado com base no exame de um conjunto padrão de lâminas fornecidas pelo

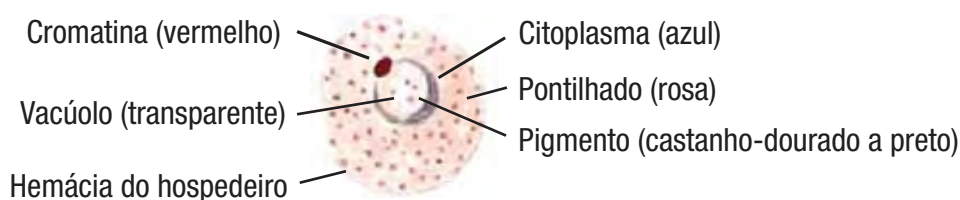
10 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila: Escritório Regional do Pacífico Ocidental; 2009.

instrutor. Esses níveis podem parecer altos, mas estão no extremo inferior do intervalo aceitável. À medida que sua experiência, conhecimento e habilidades melhorarem, a sua exatidão aumentará significativamente. Seguindo essa abordagem e praticando continuamente, você não terá dificuldade em obter 80% de exatidão para algumas atividades. Muitos alunos alcançarão sistematicamente níveis ainda mais altos de competência.

Como reconhecer um parasito da malária

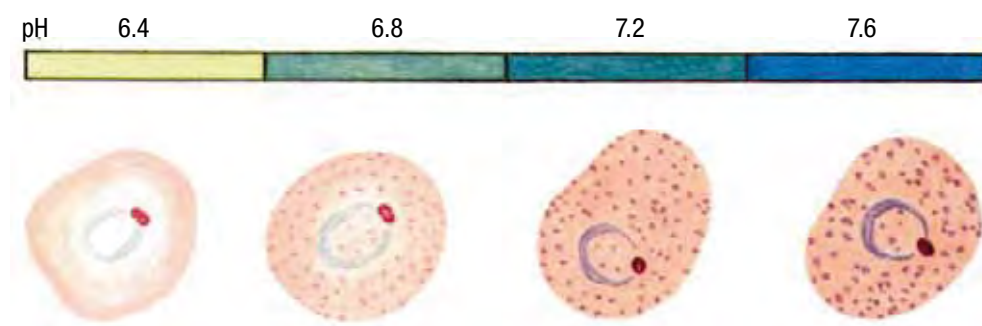
A coloração de Giemsa cora cada uma das partes de um parasito da malária de maneira diferente. Com uma boa coloração, é fácil distinguir as partes mostradas no diagrama.

Partes de um parasito da malária dentro da hemácia



A água tamponada a um pH estável de 7,2 é essencial para uma boa coloração dos parasitos e dos elementos leucocitários. Sem um pH estável, a coloração varia muito; dependendo do pH, pode ter aspecto semelhante à do diagrama abaixo.

Efeito do pH na morfologia do parasito



Os parasitos da malária passam por uma série de estádios de desenvolvimento, durante os quais seu formato varia muito. No entanto, as mesmas partes do parasito adquirem a mesma coloração em cada estágio.

- A **cromatina**, parte do núcleo do parasito, geralmente é redonda e se cora de vermelho brilhante.
- O **citoplasma** se cora de azul; o tom do azul pode diferir entre as espécies e às vezes serve como característica diferenciadora.
- O **pigmento** é um subproduto granular do crescimento do parasito. Não absorve o corante, mas sua cor natural varia de castanho-dourado a preto. A cor e o tamanho dos grânulos de pigmento variam de acordo com a espécie e costumam ser característicos.
- **Pontilhado**, “ponteado”, “granulações” ou “fissuras” são descrições do efeito que o parasito exerce sobre a célula do hospedeiro, que é realizado por uma

boa coloração. O mais conhecido e mais fácil de demonstrar são as “granulações de Schüffner”, massas de pontos cor-de-rosa que parecem preencher algumas hemácias parasitadas por *P. vivax*. Nas infecções por *P. ovale*, os pontos são quase lilás — podendo até obscurecer o próprio parasito — e são mais propriamente chamados de “granulações de James”, embora a maioria dos técnicos continue usando o termo “granulações de Schüffner” para descrevê-los. Outros grânulos ou fissuras, como as “fissuras de Maurer”, observadas em algumas células parasitadas por *P. falciparum* no esfregaço, são menos fáceis de demonstrar e dependem da qualidade da coloração.

Estádios do parasito da malária

Durante esses exercícios práticos, você aprenderá a reconhecer os parasitos da malária e seus estádios no esfregaço. Essa é uma tarefa exigente, e você será incentivado a praticar e trabalhar por conta própria o máximo que puder.

Para ajudá-lo nesses exercícios, use a chave de referência rápida nas páginas 55–56 e os auxílios de diagnóstico contidos nas Figuras 3, 4 e 5 e nas Pranchas 4 a 8 deste manual. À medida que você se familiarizar com o que vê, perceberá que as fotomicrografias das *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária* serão cada vez mais úteis. Até ter mais experiência, continue confirmando seu diagnóstico com seu facilitador.

O estágio de trofozoíto

Este é o estágio visto com mais frequência. Os trofozoítos costumam ser chamados de formas em anel, mas o “anel” pode parecer incompleto na gota espessa. O trofozoíto pode variar de pequeno a muito grande dentro da célula hospedeira. Geralmente, há um só ponto de cromatina; em *P. falciparum*, dois são comuns. O citoplasma assume formas diferentes, desde um anel fino e definido até formas irregulares ou bizarras, às vezes chamadas de “ameboides”. À medida que o parasito cresce, o pigmento aparece. Não absorve o corante, mas sua cor natural varia de castanho-dourado a marrom-escuro, ou até preto.

Trofozoítos

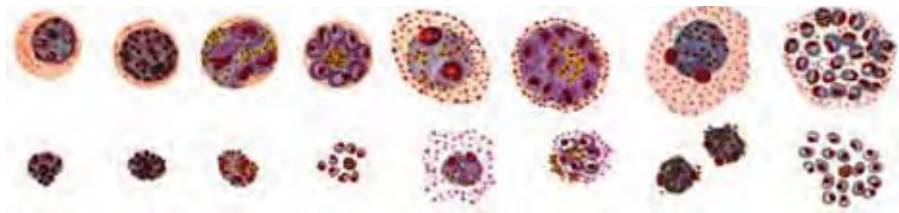


Linha de cima: parasitos no esfregaço. Linha de baixo: parasitos na gota espessa.

O estágio de esquizonte

Este estágio é facilmente reconhecido. Começa quando o trofozoíto atinge sua plena capacidade e a cromatina se divide em duas. O parasito começa a se reproduzir assexuadamente, ou seja, a célula se divide em “células filhas” (merozoítos) por divisão simples. Seguem-se várias outras divisões da cromatina, que demarcam o crescimento do esquizonte, até que haja vários corpos de cromatina, cada um com seu citoplasma. O número de divisões de cromatina e merozoítos ajuda a identificar as espécies. Esses novos parasitos, claramente delineados, estão prontos para deixar a célula hospedeira e invadir novas hemácias.

Esquizontes



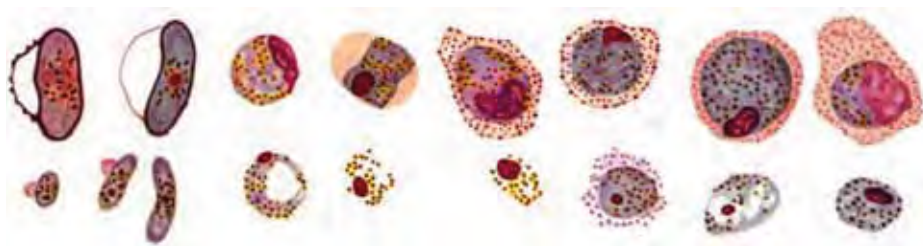
Linha de cima: esquizontes no esfregaço. Linha de baixo: esquizontes na gota espessa.

Obs.: A formação de esquizontes pelo parasito da malária (reprodução assexuada) ocorre tanto na fase hepática (exoeritrocítica) quanto na fase das hemácias (eritrocítica). Nas duas fases, esse processo é chamado de “esquizogonia”.

O estágio de gametócito

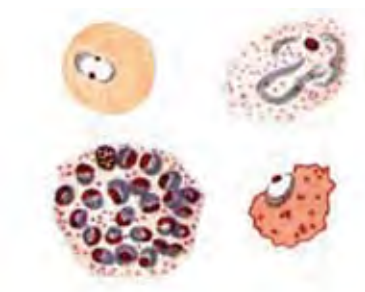













A próxima fase do desenvolvimento do parasito é um gametócito masculino ou feminino, em preparação para a fase sexual no vetor (fêmea do mosquito *Anopheles*). Os gametócitos são redondos ou em forma de banana, dependendo da espécie. A maneira como o parasito absorve o corante ajuda a identificar o sexo do parasito no esfregaço: macho (microgametócito) ou fêmea (macrogametócito). É difícil distinguir gametócitos masculinos de femininos na gota espessa.











Gametócitos



Linha de cima: gametócitos masculinos e femininos no esfregaço.
Linha de baixo: gametócitos na gota espessa.

Chave de identificação: estádios do parasito da malária em gota espessa e esfregaço

Você está vendo:	Esfregaço	Gota espessa
<p>1. Um ou mais pontos vermelhos de cromatina com citoplasma azul anexo?</p> <p>Sim: Vá para o nº 2. Não: O que você vê não é um parasito.</p>		
<p>2. O tamanho e formato são compatíveis com um parasito?</p> <p>Sim: Provavelmente seja um parasito da malária; vá para o nº 3. Não: O que você vê não é um parasito.</p>		
<p>3. Pigmento na “célula”?</p> <p>Sim: Vá para o nº 7. Não: Vá para o nº 4.</p>		
<p>4. Um ponto de cromatina ligado a um anel de citoplasma azul que contém um vacúolo?</p> <p>Sim: É um trofozoíto. Não: Vá para o nº 5.</p>		
<p>5. Um ponto de cromatina ligado a um pequeno citoplasma azul e maciço, sem vacúolo aparente?</p> <p>Sim: É um trofozoíto. Não: Vá para o nº 6.</p>		
<p>6. Um ponto de cromatina e um citoplasma azul irregular ou fragmentado?</p> <p>Sim: É um trofozoíto. Não: Vá para o nº 8.</p>		
<p>7. Um ponto de cromatina no parasito com pigmento?</p> <p>Sim: Vá para o nº 8. Não: Vá para o nº 9.</p>		

Você está vendo:	Esfregaço	Gota espessa
<p>8. Um vacúolo no parasito ou citoplasma que está fragmentado de alguma forma?</p> <p>Sim: É um trofozoíto. Não: Vá para o nº 11</p>		
<p>9. Dois pontos de cromatina ligados a um anel de citoplasma e vacúolo?</p> <p>Sim: É um trofozoíto. Não: Vá para o nº 10.</p>		
<p>10. De 2 a 32 pontos de cromatina e pigmento?</p> <p>Sim: É um esquizonte.</p>		
<p>11. Formato arredondado ou de banana?</p> <p>Sim: Vá para o nº 12. Formato de banana: Vá para o nº 14.</p>		
<p>12. Cromatina vermelha translúcida e citoplasma azul escuro num corpúsculo arredondado?</p> <p>Sim: É um gametócito feminino. Não: Vá para o nº 13.</p>		
<p>13. Um corpúsculo arredondado de cor avermelhada, com a cromatina indistinta?</p> <p>Sim: É um gametócito masculino.</p>		<p>É difícil distinguir os gametócitos masculinos e femininos na gota espessa.</p>
<p>14. Um parasito em forma de banana com citoplasma azul densamente corado e cromatina vermelha brilhante?</p> <p>Sim: É um gametócito feminino. Não: Vá para o nº 15.</p>		
<p>15. Um parasito em forma de banana com uma cor geral avermelhada, deixando a cromatina indistinta?</p> <p>Sim: É um gametócito masculino.</p>		<p>É difícil distinguir os gametócitos masculinos e femininos na gota espessa.</p>

Espécies do parasito da malária

Ao aprender a reconhecer os parasitos da malária e seus estádios, você se concentrou até o momento na aparência dos parasitos. Agora, é hora de avançar para as maneiras de identificar cada uma das espécies de parasito. O efeito do parasito sobre as hemácias do hospedeiro é de grande importância para o diagnóstico.

Espécies que causam a malária humana

Existem quatro espécies principais de parasitos da malária que infectam naturalmente os seres humanos:

Plasmodium falciparum — é a espécie mais comum nas partes tropicais do mundo. É responsável pela maioria dos casos de malária grave e morte.

Plasmodium vivax — é a espécie mais comum nas partes mais frias dos trópicos. É o maior dos parasitos da malária humana, e a causa de muitas doenças e absenteísmo do trabalho e da escola.

Plasmodium malariae — é menos comum, mas é encontrado em grande parte do mundo tropical.

Plasmodium ovale — é considerado uma espécie rara. É relativamente comum na África Ocidental e em outras partes do continente africano, e casos isolados foram relatados em países tão distantes como China, Papua Nova Guiné, Filipinas, Sudão e Tailândia. Devido a semelhanças morfológicas, o *P. ovale* às vezes é confundido com *P. vivax* por microscopistas menos experientes.

Os comentários a seguir se aplicam a esfregaços sanguíneos corados corretamente. Esfregaços mal corados não mostram as granulações de Schüffner, que são de grande valia no diagnóstico da malária por *P. vivax*. Mesmo com uma boa coloração, é difícil demonstrar as fissuras de Maurer de *P. falciparum* no esfregaço. A coloração de boa qualidade é fundamental para o diagnóstico preciso e o bem-estar do paciente.

Aspecto das diferentes espécies de parasito da malária no esfregaço

Todo guia para distinguir entre as quatro espécies deve começar com o efeito do parasito sobre as hemácias infectadas.

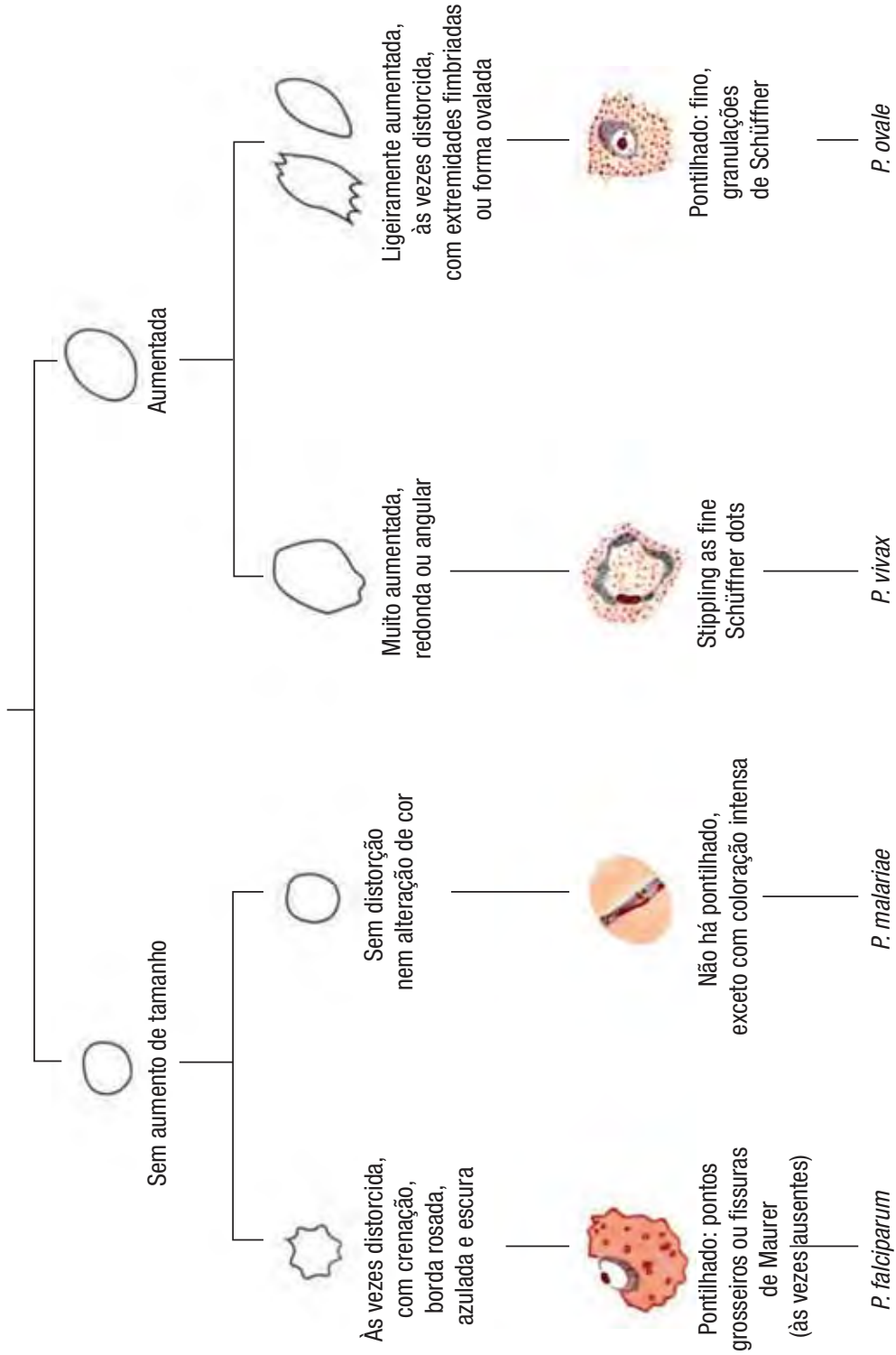
- A hemácia está aumentada?
- A hemácia infectada tem algum tipo de pontilhado?

Em casos de malária por *P. vivax* e *P. ovale*, se a coloração foi bem-feita, haverá granulações de Schüffner ou de James visíveis. Em casos de malária por *P. falciparum*, os pontos ou fissuras de Maurer são menos comuns.

As características diagnósticas descritas na Figura 6 ajudarão a guiá-lo na decisão de qual é a espécie do parasito. Continue trabalhando o máximo que puder por conta própria. Seu facilitador ajudará a resolver eventuais problemas.

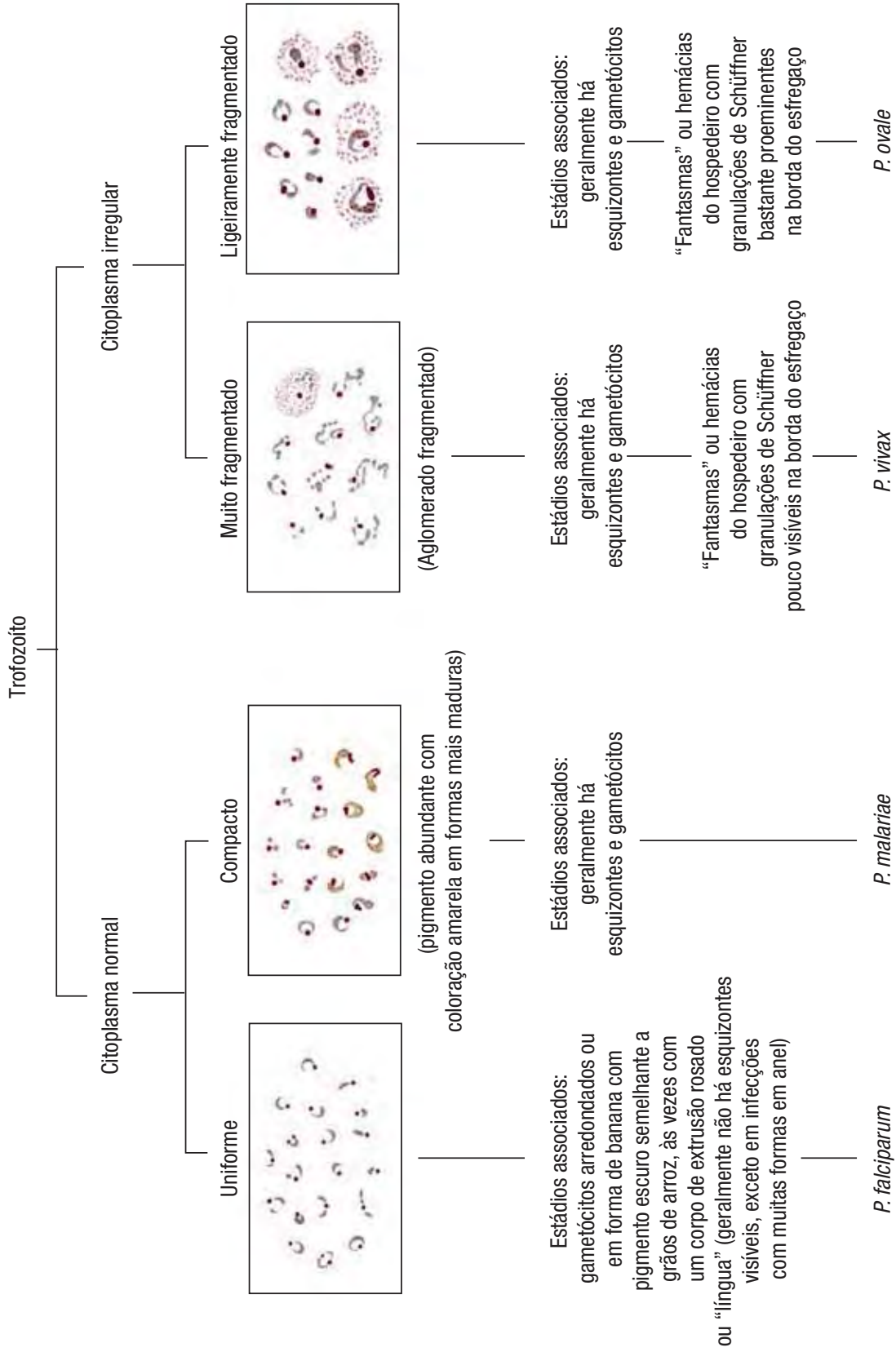
Diferenciação de espécies do parasito da malária no esfregaço

Hemácia do hospedeiro



Diferenciação de espécies do parasito da malária no esfregaço com base nas alterações das hemácias do hospedeiro e presença de granulações (coloração de Giemsa)

Diferenciação de espécies do parasito da malária na gota espessa



Diferenciação de espécies do parasito da malária na gota espessa com base no padrão citoplasmático e presença de granulações nos trofozoítos (coloração de Giemsa)

As pranchas coloridas de 4 a 7 deste manual ilustram o aspecto dos diferentes parasitos da malária. Os exemplos são de esfregaços no lado esquerdo da prancha e de gotas espessas no lado direito. A prancha 8 apresenta uma comparação do aspecto dos diferentes estádios de cada espécie na gota espessa. Use-os juntamente com as *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária* conforme sua familiaridade com a aparência dos diferentes estádios e espécies de parasito da malária for aumentando. As microfotografias contidas nas *Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária* mostram o aspecto real dos diferentes estádios e espécies de parasitos no esfregaço e na gota espessa.

Quando o seu facilitador o considerar competente na identificação de estádios e espécies no esfregaço, você passará para o exame de parasitos na gota espessa. O nível alvo de competência na identificação de espécies para microscopistas de laboratórios periféricos é de 80%¹¹ (exatidão esperada após o exame de um conjunto padrão de lâminas preparadas). Isso não é difícil de alcançar com a prática. À medida que você ganha experiência, alcançará facilmente os níveis mais altos de competência exigidos pelo curso. Só é preciso prática e atenção aos detalhes.

Lembre-se:

Identificar uma lâmina positiva como “negativa” é um erro de diagnóstico. Isso pode significar que a malária não será diagnosticada e o paciente receberá o tratamento errado. Se a malária for causada por *P. falciparum*, o paciente pode ficar ainda mais doente e até morrer.

Aspecto das diferentes espécies de parasito da malária na gota espessa

Assim como o aspecto das hemácias e leucócitos difere entre o esfregaço e a gota espessa, também existem diferenças no aspecto dos parasitos da malária.

- Quando uma gota espessa é visualizada com objetiva de imersão em óleo 100× e um par de oculares 10×, as hemácias não são observadas.
- Ainda é possível ver claramente os parasitos da malária, mas, assim como os leucócitos, eles parecem menores.
- Os anéis finos do citoplasma de alguns trofozoítos parecem estar incompletos ou quebrados.
- A aparente ausência de hemácia dificulta a visualização das granulações de Schüffner, principalmente nas partes mais espessas da gota.
- É possível ver os “fantasmas” das hemácias circundando os parasitos perto da borda do esfregaço. Isso ajudará no diagnóstico.
- As fissuras de Maurer causadas pelo *P. falciparum* não aparecem na gota espessa após a coloração.

Você terá que observar com muito cuidado para enxergar os parasitos na gota espessa e deverá usar o micrométrico para focar cada vez que quiser olhar um elemento ou mover o campo microscópico. Isso ocorre porque a gota espessa é mais

11 OMS. *Malaria microscopy quality assurance manual*. Manila: Escritório Regional do Pacífico Ocidental; 2009.

profunda do que a camada única de células do esfregaço. Essa prática de ajustar e reajustar o foco constantemente deve tornar-se natural à medida que você ganha experiência em microscopia. Se você não ajustar e reajustar constantemente o foco ao examinar o campo e mover a lâmina, corre o risco de deixar passar parasitos.

Contaminantes e artefatos nos esfregaços sanguíneos

Você já viu alguns objetos presentes nos esfregaços sanguíneos que causam confusão e incerteza. Pode haver outros hemoparasitos na sua região que são coletados rotineiramente em amostras de sangue para pesquisa ou em pacientes. Esses parasitos não relacionados à malária devem ter sido demonstrados a você. Embora não sejam artefatos, você precisa estar familiarizado com eles, porque detectá-los é muito importante para o programa de controle da malária. Este assunto de importância local será explicado em detalhes pelo seu instrutor.

Artefatos que aparecem comumente nos esfregaços sanguíneos

Fungos

A melhor maneira de evitar o crescimento de fungos nas lâminas é garantir que as lâminas limpas e embrulhadas sejam armazenadas em local seco antes do uso. No laboratório do hospital, as lâminas são geralmente guardadas imersas em álcool metílico e secas imediatamente antes de usar; assim, o mofo raramente é um problema. Em climas úmidos e quentes, as lâminas que permaneçam sem coloração por 48h ou mais correm um alto risco de contaminação por fungos. As gotas espessas que não forem coradas imediatamente precisam ser desmembradas o mais rápido possível após a secagem. Depois de desmembradas e secas, devem ser armazenadas em local seco até o momento da coloração. Este método não garante que não haverá crescimento de fungos, mas reduz a possibilidade de ocorrência.

Pólen e esporos no ar

Instalam-se facilmente em esfregaços sanguíneos recém-confeccionados e ainda úmidos, principalmente em determinadas épocas do ano e durante pesquisas em comunidades remotas e aldeias. Se os esporos se depositarem antes que o esfregaço seque, eles podem absorver o corante, causando ainda mais confusão no exame. A secagem das lâminas em uma bandeja ou placa coberta ajudará a evitar esse tipo de contaminação.

Sujeira e bactérias

Sujeira e bactérias podem ser transferidas do dedo mal limpo do paciente no momento da confecção do esfregaço, ou se a lâmina não estiver perfeitamente limpa. A sujeira que fica debaixo das unhas é facilmente transferida para a lâmina se o sangue correr sob a unha no momento da confecção do esfregaço. A boa higiene pessoal do paciente e o uso de luvas protetoras de látex pelo profissional de saúde ajudarão a evitar esse problema.

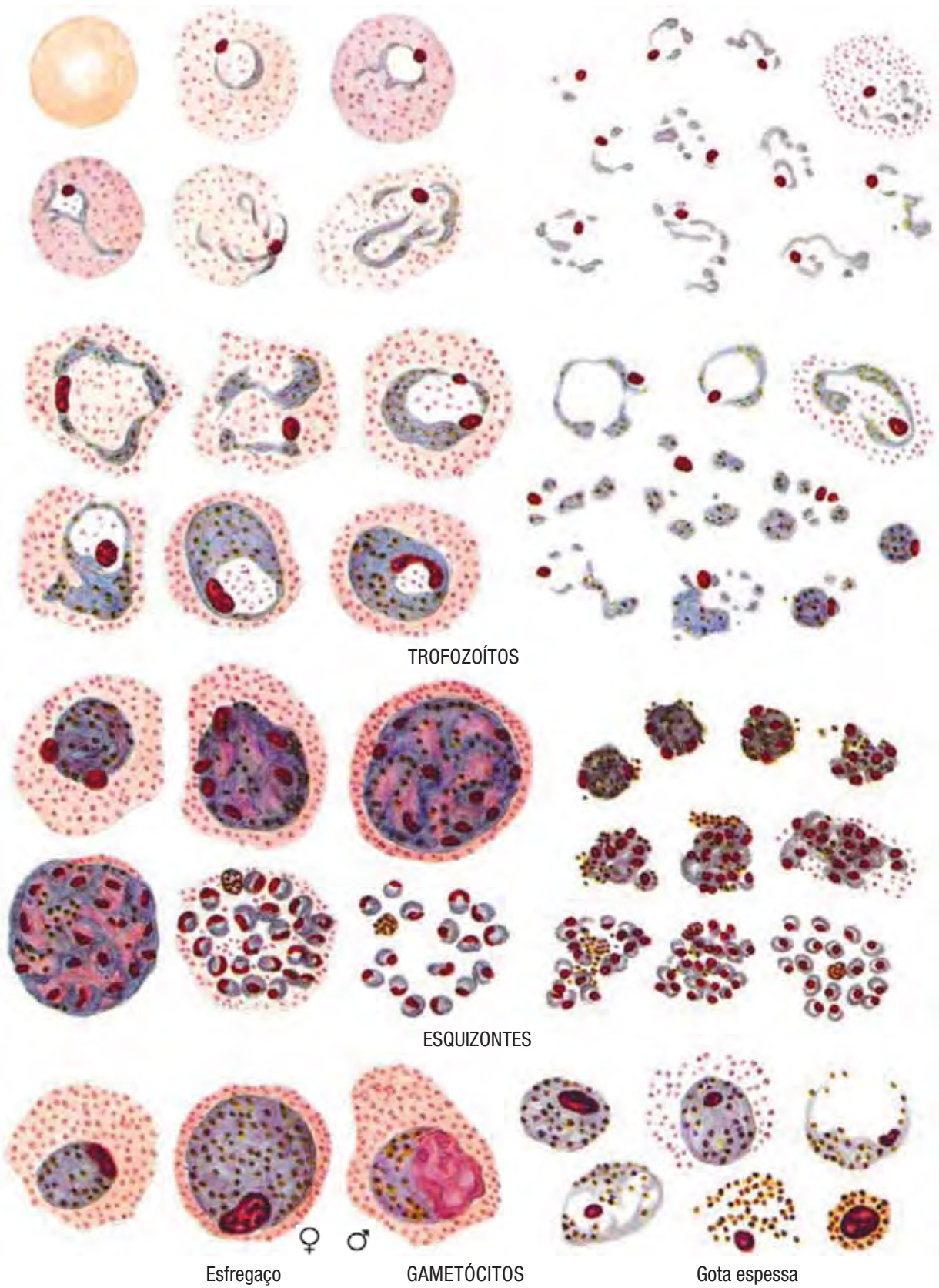
Água contaminada

Caso seja usada água de poço, da chuva ou de rio sem tratamento prévio para preparar água tamponada ou para lavar as lâminas, qualquer contaminante orgânico presente na água poderá ser transferido para o esfregaço, causando incerteza no diagnóstico. A fervura e a filtração ajudam a eliminar esse problema.

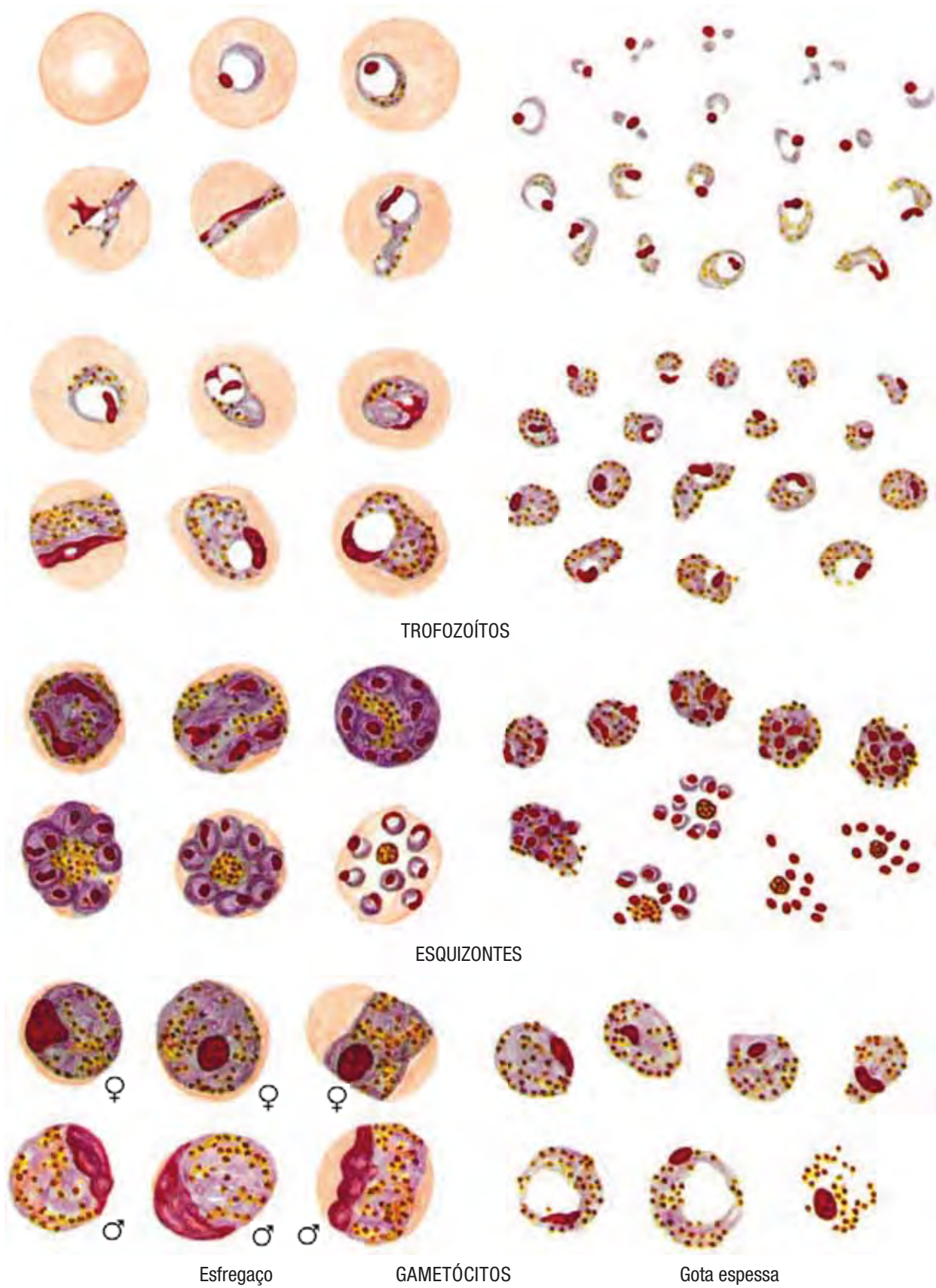
Prancha 1. Estádios do *Plasmodium falciparum* em esfregaço e gota espessa, coloração de Giemsa



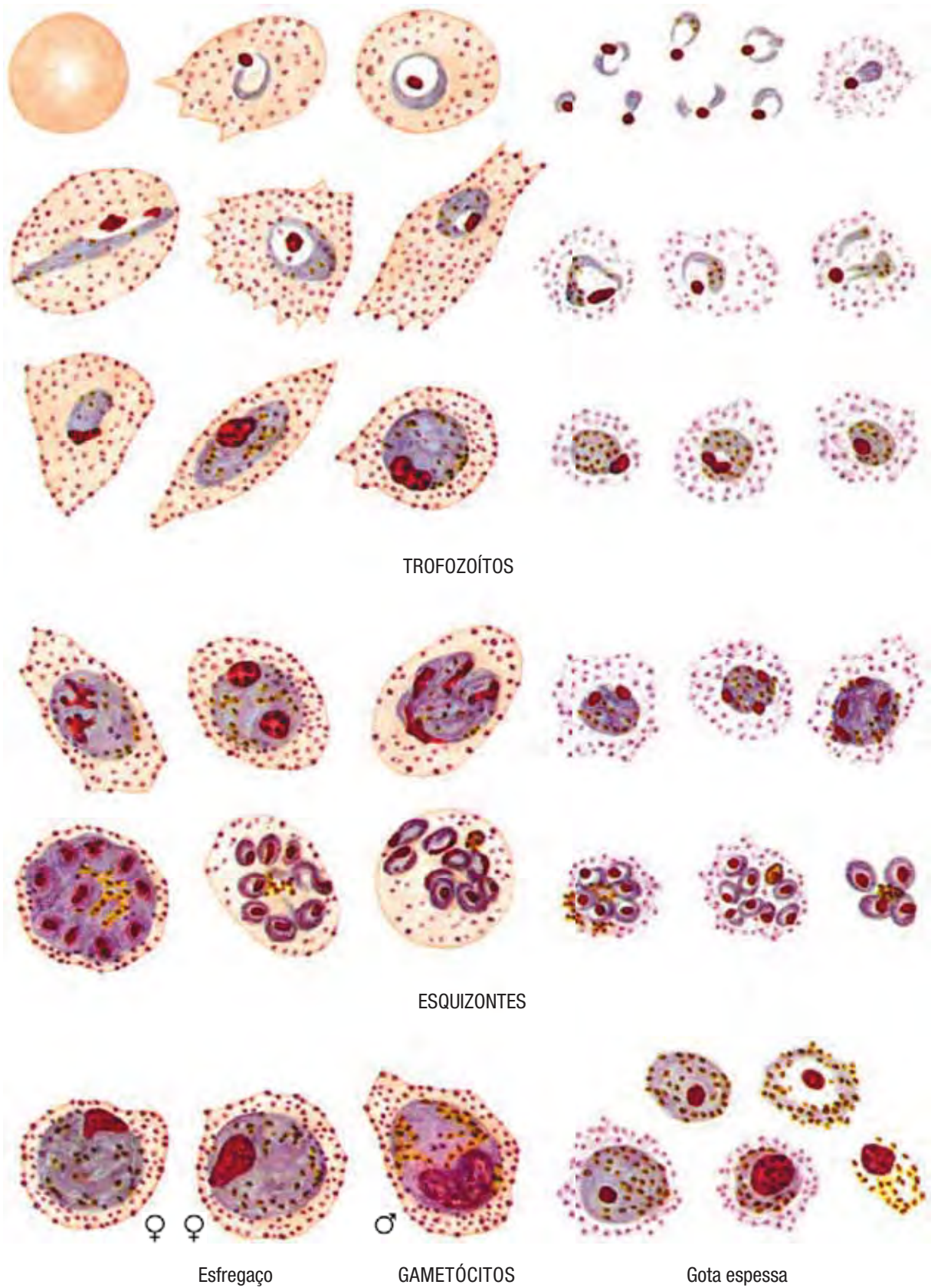
Prancha 2. Estádios do *Plasmodium vivax* em esfregaço e gota espessa, coloração de Giemsa






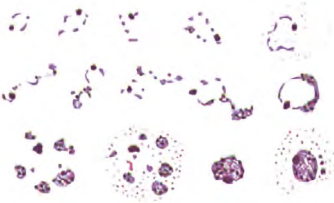
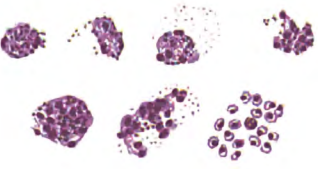

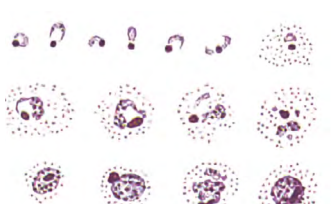
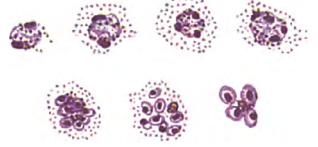
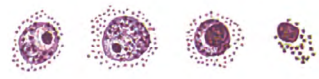
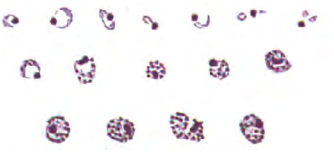
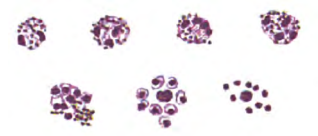

Prancha 3. Estádios do *Plasmodium malariae* em esfregaço e gota espessa, coloração de Giemsa



Prancha 4. Estádios do Plasmodium ovale em esfregaço e gota espessa, coloração de Giemsa



Prancha 5. Identificação de espécie do parasito da malária em gota espessa, coloração de Giemsa

Espécie	Trofozoito	Esquizonte	Gametócito
<p><i>Plasmodium falciparum</i></p> <p>Geralmente são visualizados trofozoitos 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 incommuns. 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><i>Plasmodium vivax</i></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><i>Plasmodium ovale</i></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>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>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><i>Plasmodium malariae</i></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>

Anotações

Anotações

Unidade de aprendizagem 9

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

Objetivos de aprendizagem

Seguindo as etapas e os padrões desta Unidade de aprendizagem, você estará capacitado a examinar gotas espessas e esfregaços para:

- **demonstrar** uniformidade no diagnóstico microscópico da malária pelo método de Giemsa;
- **demonstrar** competência e exatidão consistente na identificação dos parasitos da malária;
- **demonstrar** competência e exatidão consistente em distinguir entre infecções por *P. falciparum* e *P. vivax*;
- **explicar** por que a gota espessa é utilizada como rotina para o diagnóstico da malária, e as exceções a essa regra;
- **explicar** por que e como fazer a quantificação da parasitemia;
- **demonstrar** consistência na quantificação da parasitemia em gota espessa e expressá-la em parasitos por microlitro de sangue.

Nesta unidade, você usará os mesmos métodos de microscopia de rotina para diagnóstico da malária *que você usará quando voltar ao seu laboratório de origem*. Isso significa seguir todas as etapas da rotina, inclusive o uso de fichas de paciente e o registro dos resultados, como você aprendeu.

Como nas outras unidades de aprendizagem, alcançar esses objetivos pode parecer difícil. Porém, você logo perceberá que apenas os dois últimos objetivos são novos. Os outros não são mais do que atualizações de objetivos anteriores que você já alcançou para chegar a esse ponto. Considerando a sua prática e a sua experiência atual, esses objetivos serão razoavelmente fáceis de dominar.

Exame da gota espessa

No diagnóstico microscópico da malária pelo método de Giemsa, o exame de rotina é o da gota espessa. Desde que os esfregaços sanguíneos sejam bem preparados e corados corretamente, o exame não deve apresentar qualquer problema. Com a prática contínua, você alcançará facilmente os níveis de exatidão necessários para demonstrar sua competência na identificação dos diferentes estádios e espécies do parasito da malária. A microscopia pelo método de Giemsa é

extremamente sensível, e um examinador experiente é capaz de detectar parasitos da malária em densidades tão baixas quanto 5 a 10 parasitos por microlitro de sangue.

Nesta fase do treinamento, mesmo que você consiga diferenciar facilmente os estádios das quatro espécies, espera-se que você demonstre consistência somente ao distinguir *P. falciparum* de *P. vivax*, pois essas duas espécies geralmente são responsáveis por mais de 95% dos casos de malária identificados na maioria dos países. Atingir o nível de competência exigido requer prática, experiência e concentração.

O problema mais comum na identificação de estádios e espécies na gota espessa é a diferenciação entre as formas iniciais (em anel) das quatro espécies, principalmente *P. vivax* e *P. falciparum*.

- Cada espécie, por si só, é bastante fácil de identificar.
- Em casos de *P. vivax*, geralmente há trofozoítos e esquizontes de vários estádios presentes. A presença de granulações de Schüffner e hemácias aumentadas de tamanho confirma o diagnóstico de *P. vivax*.
- Em casos de *P. falciparum*, costuma haver apenas trofozoítos jovens, geralmente em grande número, e, às vezes, os gametócitos característicos em forma de banana ou salsicha.
- Somente nos casos mais graves de malária por *P. falciparum* são observados trofozoítos maduros e esquizontes na gota espessa. Geralmente, estes estádios estão escondidos nos órgãos mais profundos do corpo — um fenômeno chamado “sequestro” (ver Prancha 1).
- Se houver estádios de *P. vivax* presentes com formas pequenas em anel, mas sem granulações de Schüffner óbvias nem aumento celular, a lâmina deve ser identificada como infecção mista por *P. vivax* e *P. falciparum*. Nesses casos, o esfregaço deve ser examinado para confirmar o diagnóstico.
- Esteja sempre ciente da possibilidade de que uma segunda espécie (geralmente em densidade mais baixa) pode estar presente em qualquer lâmina positiva.
- As formas em anel de *P. falciparum* permanecem pequenas, sem efeito óbvio na hemácia do hospedeiro, exceto a presença de fissuras de Maurer (visíveis somente em esfregaços bem corados).

Na gota espessa, às vezes é difícil diferenciar entre:

- trofozoítos tardios ou maduros e gametócitos de *P. vivax*;
- trofozoítos de *P. malariae* e gametócitos arredondados de *P. falciparum*; e
- trofozoítos maduros e gametócitos de *P. malariae*.

Na microscopia normal, de rotina, o registro da presença de gametócitos é restrito a casos de *P. falciparum*, que geralmente é um diagnóstico fácil.

Sequestro dos parasitos da malária.

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. ovale</i>
Trofozoítos				
Esquizontes				
Gametócitos				

Sequestro: Em infecções por *P. falciparum*, os estádios do parasito mostrados no quadro azul geralmente não são visíveis no sangue periférico, exceto em casos graves. Em infecções pelas três outras espécies, todos os estádios são visíveis no sangue periférico. Parasitos em gota espessa. Coloração de Giemsa.

Técnica para exame microscópico de gota espessa

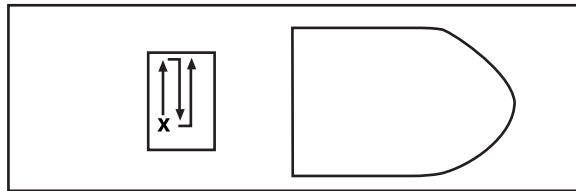
Você precisará de:

- um microscópio binocular dotado de objetivas 10×, 40× e 100× e platina mecânica (pode-se acoplar um marcador/indicador de objeto, se disponível);
- uma fonte de luz elétrica, à bateria ou solar;
- lâminas para microscopia;
- óleo de imersão;
- pelo menos dois contadores manuais, um para parasitos e outro para leucócitos;
- calculadora eletrônica;
- temporizador (timer/cronômetro) para laboratório;
- fichas de registro; e
- uma caneta.

O método:

1. Coloque a lâmina a ser examinada na platina e posicione a gota espessa imediatamente sob a objetiva.
2. Pingue uma gota de óleo de imersão sobre a gota espessa e permita que o óleo se espalhe.
3. Usando as oculares 10× e a objetiva 40×, faça uma varredura da gota em busca de microfilárias, outros hemoparasitos grandes e sujidades óbvias. Selecione uma parte da lâmina que esteja bem corada, livre de sujidades e onde os leucócitos estejam distribuídos uniformemente.

4. Afaste o revólver (porta-objetivas) da platina e troque para a objetiva de imersão em óleo 100×. Posicione a objetiva sobre a parte selecionada da gota espessa.
5. Suba a platina até que a objetiva toque delicadamente o óleo de imersão.
6. Usando o micrométrico, ajuste o foco para visualizar bem os elementos celulares e confirme se a parte escolhida do esfregaço é aceitável para exame de rotina: 15 a 20 leucócitos por campo da gota espessa indicam uma espessura satisfatória do esfregaço. Se houver menos glóbulos brancos por campo, será preciso um exame mais extenso.
7. Começando no “X” do diagrama abaixo, examine a lâmina cuidadosamente, campo por campo, movendo-se de um campo para o campo contíguo, como mostra a figura. Para um exame eficiente, ajuste e reajuste continuamente o foco com o micrométrico durante o exame de cada campo.



8. O número de campos examinados antes que o esfregaço possa ser considerado negativo varia de acordo com o programa. Seu facilitador descreverá o sistema e o padrão nacional usados no seu país. O exame de rotina da gota espessa é baseado no exame de 100 campos satisfatórios; ou seja, uma lâmina só pode ser considerada negativa quando no mínimo 100 campos tiverem sido cuidadosamente examinados em busca de parasitos. Se forem encontrados parasitos, mas o diagnóstico da espécie for incerto, recomenda-se examinar mais 100 campos para identificar uma possível infecção mista.

Obs.: O exame de 100 campos microscópicos com a objetiva de imersão em óleo leva aproximadamente 10 minutos.

9. Se a lâmina for positiva e a espécie tiver sido identificada, faça a quantificação da parasitemia (veja abaixo), se for parte da rotina do seu serviço.
10. Finalize o exame registrando suas constatações na(s) ficha(s) apropriada(s).
11. Retire o óleo de imersão da lâmina de acordo com o método usado no seu serviço e armazene a lâmina em um porta-lâminas tampado para referência posterior.

Como registrar o que foi observado

Cada programa ou laboratorista registra os resultados do exame da gota espessa à sua maneira. Infelizmente, não existe uma forma padronizada, o que pode levar a mal-entendidos e confusão. Quando são usados registros informatizados, a brevidade é essencial e as abreviações podem não seguir o padrão. A lista a seguir apresenta algumas abreviações comuns para as observações ao microscópio. O seu programa pode ter suas próprias abreviações.

Positivo para parasitos da malária:

P positivo, P

Negativo para parasitos da malária:	P negativo, P neg
Positivo para <i>P. falciparum</i> :	Pf, PF, Pfal, F
Positivo para gametócitos de <i>P. falciparum</i> :	Pfg, PFG, Fg
Positivo para <i>P. vivax</i> :	Pv, PV, V
Positivo para <i>P. malariae</i> :	Pm, PM, M
Positivo para <i>P. ovale</i> :	Po, PO, O, Ov

Quaisquer que sejam as abreviações usadas, seja consistente.

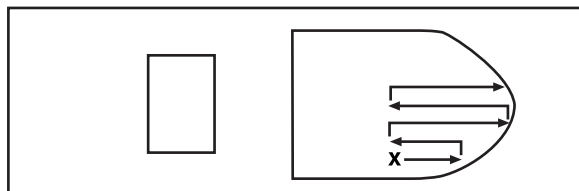
Exame do esfregaço

Geralmente, não se examina o esfregaço para diagnosticar a malária, mas há exceções a essa regra. O exame do esfregaço é recomendado quando a gota espessa for pequena demais, houver sido perdida durante a coloração, sofrido autofixação ou se tornado impossível de examinar por algum outro motivo. Também pode-se usar o esfregaço quando a confirmação da espécie for difícil ou incerta na gota espessa e quando a parasitemia for muito elevada.

O exame do esfregaço é realizado no microscópio convencional.

O método:

1. Coloque a lâmina na platina, posicionando a objetiva de imersão em óleo 100× sobre a borda do meio do esfregaço, indicada pelo “X” no diagrama abaixo.
2. Pingue uma gota de óleo de imersão na borda do meio do esfregaço.
3. Suba a platina até que a objetiva toque o óleo de imersão, como no exame da gota espessa.
4. Examine o esfregaço seguindo o padrão de movimento mostrado no diagrama, avançando ao longo da borda do esfregaço, movendo a lâmina para dentro um campo por vez, voltando com um movimento lateral e assim por diante.
5. Continue examinando até que a presença e as espécies de parasitos da malária tenham sido identificadas ou até pelo menos 800 campos estarem limpos antes de declarar um resultado negativo.



Obs.: Para obter a mesma sensibilidade que a do exame da gota espessa com objetiva de grande aumento (objetiva de imersão em óleo 100×) por 10 minutos, você deve examinar o esfregaço por pelo menos 30 minutos.

Quantificação da parasitemia

Em toda lâmina positiva, deve-se avaliar a densidade parasitária no sangue (parasitemia), porque:

- O clínico precisa saber a gravidade da infecção;
- O clínico precisa saber como a infecção está respondendo ao tratamento;
- A parasitemia é um dado importante nas infecções por *P. falciparum*, que são sempre consideradas potencialmente perigosas;
- As autoridades de saúde da região precisam estar cientes da gravidade dos casos observados nas unidades de saúde de sua região;
- A determinação da parasitemia pode ser necessária em pesquisas transversais e epidemiológicas ou em estudos especiais, como nas pesquisas de monitoramento da eficácia terapêutica de medicamentos antimaláricos.

O método a seguir para a quantificação da parasitemia possui exatidão razoável e aceitável, e é recomendado por sua facilidade e simplicidade. Essas etapas devem ser seguidas somente após a conclusão do exame da lâmina e da confirmação de estágio e espécie do parasito. O número de parasitos é contado em relação a um número padrão de leucócitos na gota espessa. Embora uma contagem mais precisa seja obtida quando a verdadeira contagem de leucócitos do paciente é conhecida, isso geralmente não é possível de determinar em áreas rurais ou remotas. O número de leucócitos usado (8 mil) é totalmente arbitrário, com grandes variações entre os indivíduos, mas é aceito como razoavelmente preciso.

Além dos materiais já utilizados, você precisará de:

- dois contadores manuais (um para contar os parasitos e outro para contar os leucócitos); e
- uma calculadora eletrônica simples.

O método:

1. Campo a campo, conte o número de parasitos visualizados em um contador e o número de leucócitos no outro.
2. O número de parasitos e leucócitos contados dependerá da quantidade de parasitos e do tempo disponível para fazer a contagem. Quanto menor o número de parasitos contados, maior o número de leucócitos que devem ser contados. 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. Em alguns casos, a parasitemia é tão grave que são contados centenas de parasitos por campo. Nessa situação, é apropriado contar até 100 leucócitos, ou o número total em cerca de cinco campos de imersão em óleo (assumindo cerca de 15 leucócitos por campo da gota espessa).
3. Com a contagem terminada, pode-se calcular o número de parasitos em relação aos leucócitos contados e expressar o resultado em “parasitos por microlitro de sangue”, a partir de uma simples fórmula matemática:

$$\frac{\text{Número de parasitos contados} \times 8.000}{\text{Número de leucócitos}} = \text{parasitos por microlitro de sangue}$$

Em infecções mistas (duas espécies ou mais), é comum contar todos os parasitos assexuais juntos e expressar o resultado como, por exemplo: *P. falciparum* + *P. vivax* = 23.720 μ l (593 parasitos contados contra 200 leucócitos \times 8.000). Alguns programas exigem a contagem dos gametócitos de *P. falciparum* quando presentes, um indicador que pode ser importante em estudos da resposta dos gametócitos à primaquina. No seu programa, você pode ser instruído a fazê-lo por meio de um contador manual adicional.

O “sistema de cruces” é um método antigo, simples, mas muito menos preciso para estabelecer a parasitemia em gota espessa. Por não ser confiável, foi substituído pelo método descrito acima e não é mais recomendado. Seu uso persiste em locais onde não é possível usar o método quantitativo. Estudos demonstraram que muitos microscopistas esquecem os detalhes do método e confundem o código (o número de cruces) com a contagem (o número de parasitos por campo ou por 100 campos), resultando em informações não confiáveis sobre a parasitemia. Neste sistema:

- + = 1 a 10 parasitos por 100 campos da gota espessa;
- ++ = 11 a 100 parasitos por 100 campos da gota espessa;
- +++ = 1 a 10 parasitos em 1 campo da gota espessa;
- ++++ = mais de 10 parasitos por campo da gota espessa.

Leia a Unidade de aprendizagem 10 para se preparar para sua formatura.

Anotações

Unidade de aprendizagem 10

Aspectos da supervisão do diagnóstico microscópico da malária

Objetivos da unidade

Ao final desta Unidade de aprendizagem, você será capaz de:

- **explicar** a importância da supervisão do seu trabalho;
- **explicar** as maneiras pelas quais seu trabalho será supervisionado; e
- **descrever** o que você deve providenciar para que seu supervisor possa supervisionar efetivamente seu trabalho.

A conclusão desta capacitação em microscopia pelo método de Giemsa significa que você atingiu os níveis exigidos de eficiência e competência. A partir de agora, você trabalhará com pacientes que dependerão das suas habilidades e conhecimentos para determinar se eles têm malária. Você aprendeu que a margem de erro é pequena ao lidar com pacientes, e é por isso que os níveis de competência técnica e exatidão exigidos neste curso foram de 80% ou mais. Após a formatura, é importante garantir que você continue mantendo o nível alcançado durante o treinamento. Para tanto, seu supervisor monitorará periodicamente seu trabalho, além de continuar ajudando a melhorar suas habilidades e competências. Isso se chama controle de qualidade e faz parte das atividades gerais de garantia de qualidade que são executadas em todo serviço de diagnóstico microscópico da malária.

Lembre-se de que a supervisão regular do seu trabalho é necessária para:

- confirmar que você continua fazendo seu trabalho conforme foi treinado;
- garantir a continuidade do alto nível de serviço e confiabilidade que seu laboratório fornece ao público;
- ajudá-lo a ajustar seu trabalho e rotina de trabalho conforme as orientações do seu supervisor;
- identificar quando você estiver pronto para um treinamento mais avançado ou quando puder se beneficiar de um breve curso de reciclagem;
- proporcionar oportunidades para discutir e resolver problemas locais;
- fornecer evidências das suas realizações pessoais e do seu desempenho individual; e
- ajudar a identificar funcionários que estão prontos para progredir na carreira.

Tipos de supervisão

Há dois tipos de supervisão: direta e indireta.

Supervisão direta

Na supervisão direta, seu supervisor entra em contato, seja por meio de uma visita presencial ou por um período mais longo, se os dois trabalham no mesmo local. Dessa maneira, o supervisor pode observar o que você faz no seu trabalho, como trabalha, se precisa modificar alguma prática e se há escassez de insumos ou materiais. Isso proporciona uma oportunidade útil para discutir assuntos importantes que podem ser difíceis de comunicar por carta, telefone ou e-mail. A menos que você e o supervisor trabalhem no mesmo local ou em locais muito próximos, esse tipo de supervisão é difícil de realizar periodicamente e pode ser cara em termos de mão de obra, tempo e dinheiro. Porém, essa abordagem é importante para avaliar vários fatores que estão além da competência do microscopista, mas que influenciam seu desempenho, como a condição dos equipamentos, a carga horária e o ambiente de trabalho.

Livro de visita ou registro de visitantes:

Todo estabelecimento de saúde deve manter um registro das visitas de supervisores e especialistas em um livro de visita, no qual são registradas a data da visita, o trabalho ou a inspeção realizada e quaisquer observações pertinentes. Esse livro é de grande valia para o seu trabalho. Se o seu laboratório ainda não conta com um, você receberá uma amostra para levar.

Supervisão indireta

A supervisão indireta envolve a avaliação do trabalho de uma pessoa a partir de dados e outras informações enviadas regularmente. A condição dos esfregaços enviados é o aspecto de maior interesse para o supervisor. Eles atendem ao padrão definido? Qual é a exatidão do diagnóstico quando comparado com o reexame pelo supervisor (verificação cruzada)? Essa garantia de qualidade é importante para o microscopista e para o programa. Essa atividade é baseada em uma abordagem padrão internacionalmente aceita: os supervisores seguem uma série fixa de etapas, com padrões estabelecidos para avaliar seu desempenho e o desempenho de todos os outros microscopistas no serviço, inclusive do próprio supervisor.

Dessa maneira, os supervisores podem avaliar e monitorar à distância o padrão e a qualidade das lâminas (gota espessa e esfregaço) e sua coloração, os resultados dos exames de gota espessa, os diagnósticos de estádio e espécie e, quando necessário, a parasitemia.

O método de verificação cruzada dos resultados dos exames de lâminas pode variar um pouco entre os países, mas o resultado geral é basicamente o mesmo: cerca de 10% de todas as lâminas positivas e negativas são reexaminadas por outros microscopistas especializados que desconhecem seus resultados (“cegos” ou “mascarados”). A OMS recomenda que 10 lâminas por mês, selecionadas aleatoriamente, passem por verificação cruzada: cinco lâminas negativas e cinco positivas com baixa densidade de parasitos (20 a 200 parasitos por microlitro de sangue).

A seleção aleatória de lâminas para verificação cruzada não é difícil, mas a escolha não cabe ao microscopista que as examinou originalmente. Pelo método mais comum, no final do mês, você recebe uma lista informando o último dígito das lâminas (numeradas em série) que você deve selecionar e enviar para reexame. Por exemplo, todas as lâminas que terminam com o número 5 devem ser selecionadas. Se uma lâmina terminada em 5 estiver ausente, você seleciona uma para baixo (final 4) ou uma para cima (final 6). Em seguida, embrulhe as lâminas com cuidado em papel limpo, embale-as e encaminhe-as ao seu supervisor.

As lâminas são reexaminadas de maneira “cega”, e os dois resultados dessa lâmina são comparados. Quaisquer diferenças ou discrepâncias são identificadas, os registros são corrigidos e o microscopista original recebe o retorno do supervisor.

Como examinador original, você não deve jamais reexaminar as lâminas selecionadas antes de enviá-las ao supervisor só para garantir que seu diagnóstico original esteja correto! Essa prática demonstra falta de profissionalismo e é descoberta rapidamente por causa das correções subsequentes nos registros do laboratório ou de atrasos no envio das lâminas.

O sistema funciona bem quando você está confiante o suficiente para enviar suas lâminas para reexame por terceiros, porque você sabe que seguiu os métodos estabelecidos e que seu padrão de trabalho permanece elevado. Com essa atitude, você encara a supervisão como construtiva e bem-vinda.

Porém, o sistema é de pouca valia se o microscopista original não recebe um retorno regular a respeito das lâminas reexaminadas. Quando o material reexaminado é enviado de volta, você deve conseguir ver onde errou. O impacto desse sistema é ainda maior quando o supervisor tem a oportunidade de mostrar as discrepâncias, explicar e discutir o diagnóstico corrigido.

Devido à sua importância, a supervisão e a garantia e controle da qualidade estão em constante revisão, e seu programa talvez esteja implementando um sistema novo. Seu instrutor e seu facilitador conversarão com você a respeito do sistema atualmente em uso no seu país e como ele se aplica a você.

Você está prestes a voltar para casa.

Agora, você é um microscopista capacitado para diagnóstico da malária e tem um certificado ou registro para comprovar. Você dominou um assunto difícil, mas ainda está um pouco nervoso com a ideia de trabalhar sozinho. Mas você não estará sozinho. Este Guia do aluno e os outros materiais de consulta continuarão a ajudá-lo no seu trabalho diário.

Lembre-se de que o seu trabalho é importante para o bem-estar dos pacientes, que dependem do seu alto nível de competência. O seu supervisor pode estar longe, mas deve ser sempre informado sobre qualquer problema o mais rápido possível. Os supervisores estão encarregados de ajudar a resolver os problemas que surgirem, mas não poderão ajudar se não souberem que você está com dificuldades.

Anotações

Leitura adicional

Pranchas para o diagnóstico microscópico da malária.

Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2010.

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.

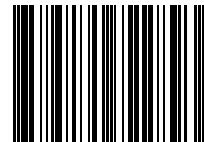
Wernsdorfer WH, McGregor I, eds.

Edinburgh, Churchill Livingstone, 1988.

Os microscopistas são essenciais para os programas de malária, e tanto os serviços de atenção como a vigilância epidemiológica dependem de suas habilidades técnicas e de diagnóstico. Assim, o treinamento em diagnóstico microscópico da malária deve ser robusto e deve atender aos elevados padrões atuais. Este módulo de capacitação foi ajustado para atender à nova conjuntura de diagnóstico e tratamento da malária. O manual está dividido em duas partes: o *Guia do aluno* (Parte I) e o *Guia do instrutor* (Parte II). O módulo inclui um CD-ROM, preparado pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, que contém microfotografias das diferentes espécies de parasitos da malária e informações técnicas em formato PowerPoint, que podem ser exibidas durante as sessões de capacitação e servir de referência para os participantes. O programa dá ênfase ao ensino e à aprendizagem, incluindo o monitoramento e avaliação individual e em grupo durante o treinamento.

O *Guia do aluno* (*Bases do diagnóstico microscópico da malária, Parte I*) ajudará os participantes durante seu treinamento em diagnóstico microscópico da malária humana. O manual foi concebido como base para um treinamento formal de 4 a 5 semanas de duração e destina-se a alunos com conhecimentos rudimentares de ciência.

ISBN 978-92-75-72289-3



9 789275 722893