

Ministério da Saúde

Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária

BRASÍLIA / DF

Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Vigilância Epidemiológica e Diretoria Técnica de Gestão

Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária

Série A. Normas e Manuais Técnicos

BRASÍLIA / DF

© 2005. Ministério da Saúde

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

Série A. Normas e Manuais Técnicos

1ª edição – 2005 – tiragem: 3.000 exemplares

Elaboração, distribuição e informações

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Vigilância em Saúde

Esplanada dos Ministérios, bloco G,

Edifício Sede, 1º andar, sala 134

CEP: 70058-900, Brasília - DF

E-mail: svs@saude.gov.br

Home page: www.saude.gov.br/svs

Elaboração

Departamento de Vigilância Epidemiológica

Diretoria Técnica de Gestão

Produção

Núcleo de Comunicação

Impresso no Brasil / *Printed in Brazil*

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.

Manual de diagnóstico laboratorial da malária / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2005.

112 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

ISBN 85-334-0974-5

1. Malária. 2. Técnicas e procedimentos de laboratório. 3. Vigilância epidemiológica. I. Título. II. Série.

NLM WC 765

Catálogo na fonte – Editora MS – OS 2005/0626

Títulos para indexação:

Em inglês: Manual of Malaria Laboratory Diagnosis

Em espanhol: Manual de Diagnóstico Laboratorial de Malaria

Sumário

APRESENTAÇÃO	5
CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A MALÁRIA	7
1 Ciclo biológico do parasito no homem	10
2 Ciclo biológico do parasito no mosquito	11
3 Transmissão da malária	14
4 Epidemiologia	14
5 Manifestações clínicas	16
CAPÍTULO 2 FUNDAMENTOS DO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA MALÁRIA	17
1 A importância do laboratório no diagnóstico da malária	19
2 Medidas de biossegurança	19
3 O exame microscópico	20
CAPÍTULO 3 A PESQUISA DE PLASMÓDIO PELA MICROSCOPIA	27
1 O preparo da gota espessa	29
2 O preparo do esfregaço delgado	32
CAPÍTULO 4 COLORAÇÃO DAS LÂMINAS	37
1 Preparo de corantes e diluentes	39
2 Técnica de coloração das lâminas	40
3 Avaliação da qualidade de coloração da gota espessa	42
4 Avaliação da qualidade de coloração do esfregaço	43
CAPÍTULO 5 CARACTERÍSTICAS DAS DIFERENTES ESPÉCIES DE PLASMÓDIOS ENCONTRADOS NO SANGUE PERIFÉRICO	45
1 <i>Plasmodium falciparum</i>	47
2 <i>Plasmodium vivax</i>	48
3 <i>Plasmodium malariae</i>	49
4 <i>Plasmodium ovale</i>	50
CAPÍTULO 6 COLORAÇÃO DAS GRANULAÇÕES DE SCHÜFFNER	51
CAPÍTULO 7 MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DA PARASITEMIA	57
1 Método tradicional de avaliação semiquantitativa (em cruces)	59

2	Método de avaliação quantitativa pela contagem de 100 campos microscópicos _____	59
3	Estimativa da parasitemia a partir da avaliação semiquantitativa _____	60
4	Método de avaliação relativa à contagem de leucócitos por campo _____	60
5	Método de avaliação pelo percentual de hemácias parasitadas (utilizado apenas para esfregaço delgado) _____	61
CAPÍTULO 8 REGISTROS DE RESULTADOS DO EXAME MICROSCÓPICO _____		63
1	Resultados positivos _____	65
2	Resultados negativos _____	66
CAPÍTULO 9 TESTES RÁPIDOS PARA O DIAGNÓSTICO DE MALÁRIA _____		67
1	Testes exclusivos para o diagnóstico de <i>P. falciparum</i> _____	69
2	Testes que discriminam o <i>P. falciparum</i> de outras espécies _____	70
3	Diagnóstico pela detecção do DNA do parasito _____	70
CAPÍTULO 10 ELEMENTOS FIGURADOS NORMAIS DO SANGUE _____		71
1	Eritrócitos ou hemácias (glóbulos vermelhos) _____	73
2	Leucócitos (glóbulos brancos) _____	73
3	Plaquetas (trombócitos) _____	73
4	Importância da avaliação dos elementos normais do sangue _____	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____		75
ANEXOS _____		79
1	Relação de material para laboratório de malária _____	81
2	Imagens das diferentes espécies de plasmódios em esfregaço e gota espessa _____	83
3	Doença de Chagas Aguda _____	104
4	Normas de organização e funcionamento do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública – Sislab _____	108
5	Relação dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen _____	110
EQUIPE DE ELABORAÇÃO _____		116

Apresentação

Em todo o mundo, a malária continua a ser um dos mais relevantes problemas de saúde pública e em nosso país também persiste como uma das principais questões, em especial na região Amazônica, que registra cerca de 90% dos casos e onde a transmissão da doença está diretamente relacionada às condições ambientais e socioculturais. Mas é na região extra-amazônica que a malária apresenta maior letalidade, seja devido ao diagnóstico tardio, seja por manejo clínico inadequado dos casos esporádicos importados de áreas endêmicas ou mesmo autóctones em poucos estados.

A partir da descentralização das ações de vigilância epidemiológica, prevenção, diagnóstico e controle da malária, o Ministério da Saúde vem fortalecendo o nível local mediante o repasse de recursos financeiros e humanos, aumentando a capacidade de os estados e municípios responderem de forma oportuna e eficiente aos desafios enfrentados no controle da doença.

Como parte desse processo e objetivando contribuir na capacitação de novos profissionais para o diagnóstico da malária, bem como atualizar os técnicos de laboratórios da rede de saúde já envolvidos com o seu diagnóstico, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde, apresenta este *Manual de diagnóstico laboratorial da malária* – elaborado pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), em conjunto com a Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle da Malária (CGPNM).

A divulgação desta publicação visa aumentar a efetividade da vigilância epidemiológica na região Amazônica e prevenir a ocorrência da doença nas áreas não-endêmicas ou de baixa endemicidade. Em sua leitura, os profissionais encontrarão informações técnicas sobre a coleta e processamento das amostras para diagnóstico, além de um acervo de figuras que facilitará a identificação do parasito.

Espera-se que sua utilização, por meio da educação continuada dos profissionais da rede de saúde pública e privada do País, efetivamente contribua para a redução da morbimortalidade da malária.

Jarbas Barbosa da Silva Júnior
Secretário de Vigilância em Saúde

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A MALÁRIA

A malária, mundialmente um dos mais sérios problemas de saúde pública, é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Plasmodium* e transmitida ao homem por fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles*, produzindo febre, além de outros sintomas. Quatro espécies de plasmódio podem causar a doença: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* (essa, de transmissão natural apenas na África).

A malária, importante doença parasitária há séculos – apesar das ações de controle implantadas há décadas em muitas partes do mundo –, é também conhecida como impaludismo, febre palustre, maleita e sezão.

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que seu impacto sobre as populações humanas continua aumentando: ocorre em mais de 90 países, pondo em risco cerca de 40% da população mundial – estima-se que ocorram de 300 a 500 milhões de novos casos, com média de um milhão de mortes por ano. Representa, ainda, risco elevado para viajantes e migrantes, com casos importados em áreas não-endêmicas.

Por esses motivos, a OMS recomenda que seu diagnóstico precoce e tratamento rápido devem ser os primeiros elementos básicos estabelecidos em qualquer programa de controle.

No Brasil, o maior número de casos é registrado na região Amazônica, cujas condições ambientais e socioculturais favorecem a expansão de sua transmissão.

Em 2003, 407.691 casos da doença foram notificados na Amazônia Legal (divisão política do território nacional que engloba nove estados: Amazônia, Acre, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins). Pela intensidade da transmissão destacaram-se os estados do Amazonas, Rondônia e Pará, responsáveis por 50% da totalidade dos casos de malária no país, com uma incidência parasitária anual, respectivamente, de 46,3/1.000 habitantes, 64,4/1.000 habitantes e 17,6/1.000 habitantes. Em toda a Amazônia, as infecções causadas pelo *P. vivax* (79%) prevaleceram sobre as do *P. falciparum* (21%).

Desde 1993, por recomendação da Conferência Ministerial de Amsterdã (outubro, 1992), o Brasil utiliza a Estratégia Global de Controle Integrado da Malária – “uma ação conjunta e permanente do governo e da sociedade, dirigida para a eliminação ou redução do risco de adoecer ou morrer de malária”.

Essa estratégia objetiva diminuir a morbimortalidade e reduzir as perdas sociais e econômicas provocadas pela malária, mediante o fortalecimen-

to dos níveis regional e local de atenção à saúde. Esses objetivos deverão ser alcançados pelo diagnóstico precoce e preciso e tratamento imediato e eficaz dos casos. Para tanto, deve-se aproveitar o pessoal técnico existente na rede de saúde – suficientemente treinado – e as instalações disponíveis nos serviços de saúde locais (públicos e privados), de modo que cada unidade seja um ponto de vigilância e atendimento à malária.

Tradicionalmente, o diagnóstico da doença é feito pela visualização microscópica do plasmódio em exame da gota espessa de sangue, corada pela técnica de Giemsa ou de Walker. Apesar de a microscopia ser considerada o padrão-ouro para o diagnóstico e monitoramento do tratamento da malária, essa técnica exige pessoal treinado e experiente no exame de distensões sanguíneas.

Recentemente, novas técnicas científicas estão sendo empregadas para desenvolver diagnósticos simples, eficazes e passíveis de realização fora do laboratório, destacando-se os testes imunocromatográficos rápidos – cuja indicação ainda é limitada para áreas de difícil acesso ou baixa prevalência.

Sabendo-se que a chave para a redução da taxa de mortalidade é o diagnóstico precoce e uma terapia eficaz, espera-se que a utilização desses testes possibilite diagnósticos rápidos nas comunidades locais, assegurando o tratamento imediato e adequado para prevenir a disseminação da doença.

1. Ciclo biológico do parasito no homem

O ciclo assexuado do plasmódio, denominado esquizogônico, inicia-se após a picada do anofelino, com a inoculação de esporozoítos infectantes no homem. A seguir, os esporozoítos circulam na corrente sanguínea durante alguns minutos e rapidamente penetram nas células do fígado (hepatócitos), dando início ao ciclo pré-eritrocítico ou esquizogonia tecidual, que dura seis dias para a espécie *P. falciparum*, oito dias para a *P. vivax* e 12 a 15 dias para a *P. malariae*. Durante esta fase, o *P. vivax* e o *P. ovale* apresentam desenvolvimento lento de alguns dos seus esporozoítos, formando os hipnozoítos, formas latentes (dormentes) do parasito responsáveis pelas recaídas da doença meses ou anos após.

Ao final do ciclo tecidual, os esquizontes rompem o hepatócito, liberando milhares de elementos-filhos na corrente sanguínea, chamados merozoítos. Ressalte-se que cada hepatócito rompido libera cerca de 2.000 merozoítos quando a infecção é devida ao *P. malariae*; 10.000, quando devida ao *P. vivax* e 40.000, quando devida ao *P. falciparum*. Os merozoítos

irão invadir as hemácias, dando início ao segundo ciclo de reprodução assexuada dos plasmódios: o ciclo sangüíneo ou eritrocítico. O *P. malariae* só invade hemácias velhas (0,1% do total), o *P. vivax* invade preferencialmente as hemácias jovens e o *P. falciparum*, hemácias em qualquer fase evolutiva.

Durante um período que varia de 48 a 72 horas, o parasito se desenvolve no interior da hemácia até provocar a sua ruptura, liberando novos merozoítos que irão invadir novas hemácias. A ruptura e conseqüente liberação de parasitos na corrente sangüínea traduz-se clinicamente pelo início do paroxismo malárico, que se repetirá com o término do novo ciclo (em dois dias, quando a infecção for devida ao *P. falciparum* ou *P. vivax* e em três dias, quando devida ao *P. malariae*).

Inicialmente, no ciclo sangüíneo, o parasito sofre uma série de transformações morfológicas – sem divisão celular – até chegar a fase de esquizonte, quando se divide e origina novos merozoítos que serão lançados na corrente sangüínea, após a ruptura do eritrócito. Assim, no exame microscópico do sangue pode-se observar variada morfologia do parasito – trofozoítos jovens (anéis), trofozoítos maduros, formas irregulares, esquizontes jovens e esquizontes maduros (Figuras 1 e 2).

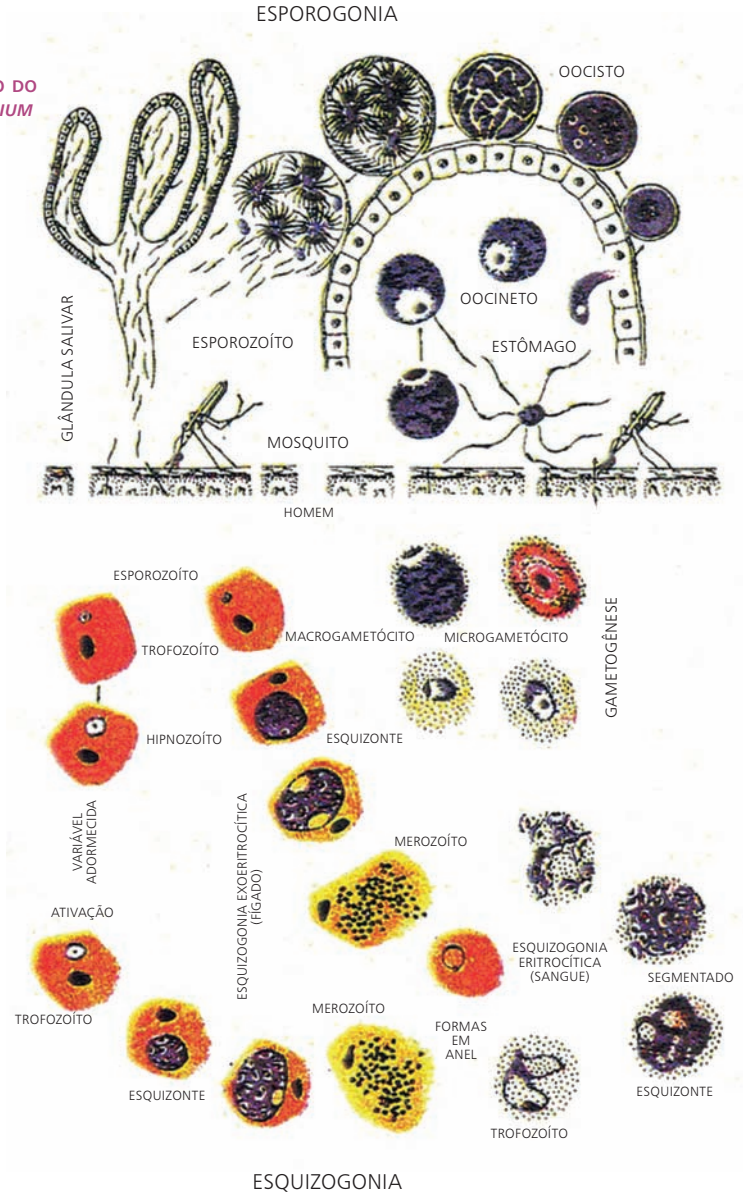
Após um período de replicação assexuada, alguns merozoítos se diferenciam em gametócitos machos e fêmeas, que amadurecem sem divisão celular e tornam-se infectantes aos mosquitos. A função desses gametócitos é reprodutiva, isto é, garantir a perpetuação da espécie. Eles podem ser de dois tipos, diferenciados microscopicamente nos esfregaços sangüíneos: os microgametócitos (masculinos) e os macrogametócitos (femininos).

2. Ciclo biológico do parasito no mosquito

A reprodução sexuada (esporogônica) do parasito da malária ocorre no estômago do mosquito, após a diferenciação dos gametócitos em gametas e a sua fusão, com formação do ovo (zigoto). Este se transforma em uma forma móvel (ocineto) que migra até a parede do intestino médio do inseto, formando o oocisto, no interior do qual se desenvolverão os esporozoítos. O tempo requerido para que se complete o ciclo esporogônico nos insetos varia com a espécie de *Plasmodium* e com a temperatura, situando-se geralmente em torno de 10 a 12 dias. Os esporozoítos produzidos nos oocistos são liberados na hemolinfa do inseto e migram até as glândulas salivares, de onde são transferidos para o sangue do hospedeiro humano durante o repasto sangüíneo.

FIGURA 1

CICLO BIOLÓGICO DO *PLASMODIUM VIVAX*



Fonte: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

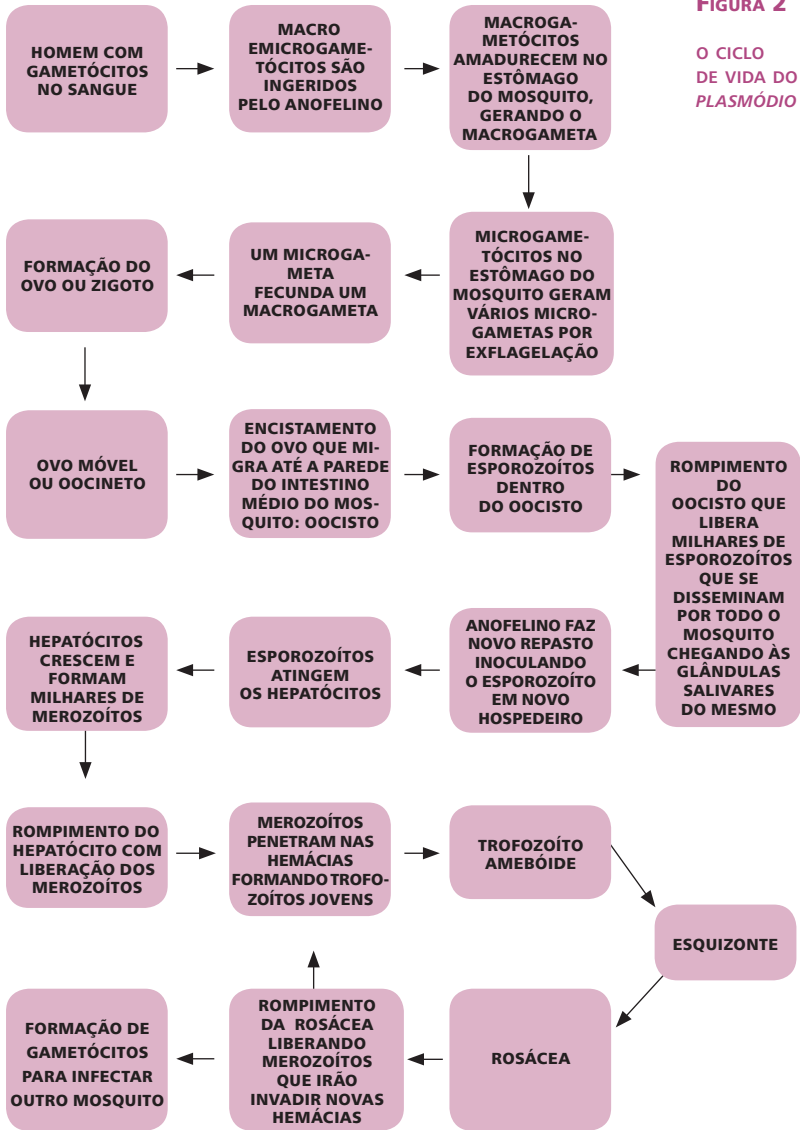


FIGURA 2
O CICLO DE VIDA DO PLASMÓDIO

3. Transmissão da malária

O período de transmissibilidade natural da malária está ligado à existência de portadores de gametócitos (reservatórios humanos) e de vetores. Existem centenas de espécies de anofelinos com potencial de transmitir a malária. No Brasil, cerca de cinco espécies são importantes: *Anopheles (N) darlingi*, *A. (N) aquasalis*, *A. (N) albitarsis*, *A. (K) cruzi* e *A. (K) bellator*. Costumeiramente, esses insetos evoluem em águas limpas e sombreadas de remansos de rios, córregos, igarapés, lagoas, represas, açudes, valetas de irrigação, alagados e pântanos. Por sua vez, a subespécie *Kerteszia* desenvolve-se em águas acumuladas pelas bromeliáceas, conhecidas no Sul pelo nome de gravatás.

A malária pode ser transmitida acidentalmente por transfusão de sangue (sangue contaminado com plasmódio), pelo compartilhamento de seringas (em usuários de drogas ilícitas) ou por acidente com agulhas e/ou lancetas contaminadas. Há, ainda, a possibilidade de transmissão neonatal.

4. Epidemiologia

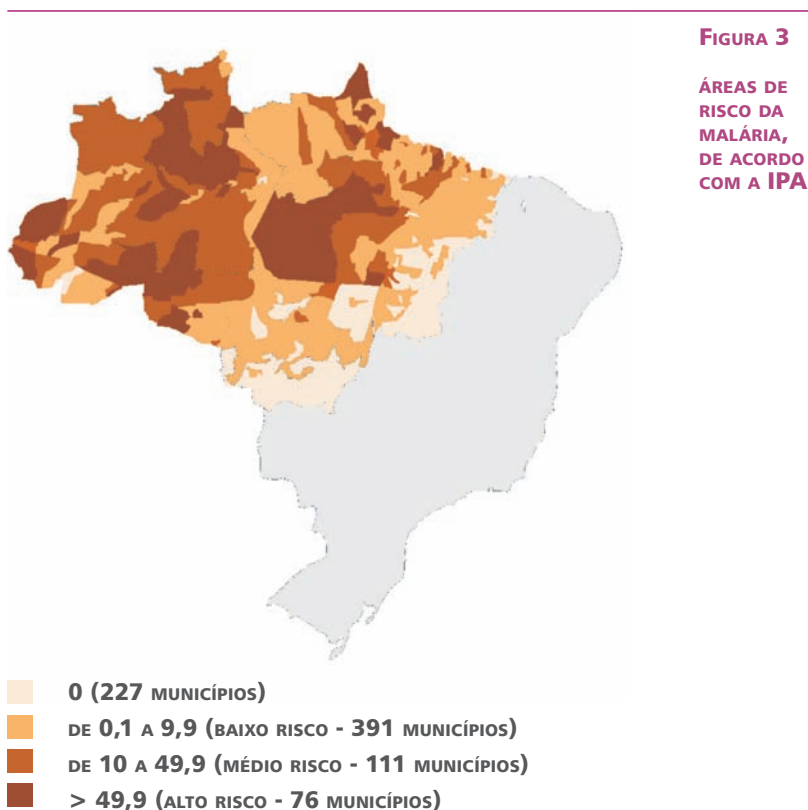
A transmissão da malária está condicionada a determinados fatores que permitem não só o surgimento de novas infecções como também a perpetuação do agente causal. Os primeiros são chamados fatores principais ou primários, cuja presença é essencial para a existência da infecção, consistindo da interação dos três seguintes fatores: o parasito, o hospedeiro humano e o vetor. Há também os fatores secundários, que atuam favorecendo ou dificultando a transmissão.

No Brasil, a grande extensão geográfica da área endêmica e as condições climáticas favorecem o desenvolvimento dos transmissores e agentes causais da malária pelas espécies de *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae* (este último com menor frequência). Especialmente na Amazônia Legal, a transmissão é instável e geralmente focal, alcançando picos principalmente após o período chuvoso do ano.

A partir das informações sobre a ocorrência de malária em determinada área e tempo, é possível, de acordo com o perfil epidemiológico de transmissão, classificar a região em área hiperendêmica, mesoendêmica ou hipoendêmica. Há ainda as áreas holoendêmicas, onde a transmissão é perene e o grau de imunidade da população é alto, permitindo a existência de portadores assintomáticos.

No Brasil, onde a transmissão da malária não é completamente estável, de acordo com a incidência parasitária anual (IPA) costuma-se classificar as áreas endêmicas como de alto risco (IPA>50/1.000 hab.), médio risco (IPA entre 10-49/1.000 hab.) e baixo risco (IPA<10/1.000 hab.) – ver distribuição na Figura 3.

Mesmo nas áreas sem registro de casos de malária, a existência do vetor torna-a vulnerável à transmissão quando da presença de um homem infectado e portador de gametócitos – o que explica o significativo número de novos focos de transmissão de malária em área extra-amazônica registrados nos últimos anos.



FONTE: SVS/MS/2003

5. Manifestações clínicas

Os sintomas da malária envolvem a clássica tríade febre, calafrio e dor de cabeça. Sintomas gerais – como mal-estar, dor muscular, sudorese, náusea e tontura – podem preceder ou acompanhar a tríade sintomática. Contudo, esse quadro clássico pode ser alterado pelo uso de drogas profiláticas ou aquisição de imunidade, e muitos desses sintomas podem ou não estar presentes e até mesmo todos podem estar ausentes. Nos casos complicados, podem ainda ocorrer dor abdominal forte, sonolência e redução da consciência – podendo levar ao coma nos casos de malária cerebral.

A ausência de parâmetros clínicos específicos que permitam confirmar a infecção justifica a necessidade de métodos laboratoriais para o diagnóstico da malária. Além disso, a presença da parasitemia não se relaciona com as manifestações clínicas, isto é, não há associação entre pico febril e positividade do exame microscópico.

Embora os ciclos evolutivos das espécies causadoras sejam similares, do ponto de vista patológico a infecção malárica apresenta diferenciações que podem determinar as variações na evolução clínica da doença. A infecção de indivíduos não imunes pelo *P. falciparum* pode resultar em forma grave e complicada, caracterizada pelo acometimento e disfunção de vários órgãos ou sistemas: sistema nervoso central, sistema hematopoiético, aparelho respiratório, fígado, sistema circulatório, rins e coagulação sangüínea. Assim, todo paciente portador dessa espécie de plasmódio deve merecer atenção especial, de modo a receber tratamento imediato, essencial para prevenir tais complicações.

**FUNDAMENTOS
DO DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL
DA MALÁRIA**

1. A importância do laboratório no diagnóstico da malária

A associação de critérios clínicos e epidemiológicos é muito importante para a suspeição da doença, isto é, a presença de sintomatologia geral em paciente procedente de área sabidamente malarígena obrigatoriamente indica a solicitação do exame laboratorial confirmatório da infecção.

Tradicionalmente, o diagnóstico confirmatório da malária é feito pelo exame microscópico do sangue, necessitando de material e reagentes adequados, bem como de técnicos bem treinados para sua realização, objetivando a detecção e diferenciação das espécies de plasmódios.

O exame microscópico do sangue pode ser feito em esfregaço delgado (distendido) ou espesso (gota espessa). A gota espessa é corada pela técnica de Walker (azul de metileno e Giemsa) e o esfregaço delgado é corado pelo Giemsa, após fixação com álcool metílico. Além do baixo custo, ambas permitem identificar, com facilidade e precisão, a espécie do plasmódio. Esses métodos também possibilitam quantificar a intensidade do parasitismo, mediante a determinação da parasitemia por volume (μl ou mm^3) de sangue. Na prática, o método da gota espessa é o mais utilizado, uma vez que a concentração do sangue por campo microscópico favorece o encontro do parasito.

Nos últimos anos, métodos alternativos e/ou complementares ao exame da gota espessa têm sido disponibilizados. Com alto custo e ainda não completamente validados para uso em campo, são métodos de diagnósticos sensíveis e específicos e têm a vantagem de serem rápidos e de fácil execução.

Entre as propostas hoje disponíveis para o breve diagnóstico da malária, destacam-se os testes imunocromatográficos – cujos principais produtos comerciais são posteriormente descritos.

2. Medidas de biossegurança

Por ser um procedimento que envolve sangue, o diagnóstico laboratorial da malária requer muita atenção às regras de biossegurança. Assim, no ato da coleta de sangue, preparação/coloração das lâminas e descarte de material contaminado deve-se observar atentamente todas as medidas de prevenção de contaminação individual e coletiva, a saber:

- a) Lavar as mãos antes e após o contato com o paciente;
- b) Usar luvas de látex descartáveis;

- c) Usar jaleco de mangas compridas, com punho elástico;
- d) Usar recipientes duros para descartáveis perfurantes (lancetas e agulhas usadas) e lâminas desprezadas;
- e) Usar sacos apropriados para o lixo sanitário.

3. O exame microscópico

Componentes ópticos e mecânicos do microscópio

Existem diversos tipos de microscópios, dependendo da função para a qual se destinam. Nos programas de controle de endemias o mais utilizado é o tipo bacteriológico, binocular, com sistema de iluminação incorporado e regulável.

O microscópio tem uma parte mecânica com os seguintes componentes: braço ou estativa, ao qual estão ligados o mecanismo coaxial e bilateral de focalização macro/micrométrica (parafuso de correção dióptrica), o revólver ou porta-objetivas, o corpo binocular com ajuste interpupilar, o diafragma-íris, o parafuso do condensador, o parafuso de avanço lateral-frontal do carro ou *charriot*, o porta-filtro, a presilha ou garra de lâmina, a platina e a base ou pé do equipamento (Figura 4). Há uma parte situada acima da platina e que corresponde ao sistema para aumento e resolução, composta por prismas, lentes oculares e objetivas. Outra parte, abaixo da platina, serve para a iluminação, possuindo fonte de luz incorporada e regulável ou sistema convencional com espelho.

Geralmente, o microscópio é equipado com um ou dois pares de lentes oculares – para ampliação de 10 vezes (10x) e/ou 7x. O corpo binocular possui prismas que, após realizado o ajuste da distância interpupilar, levam a imagem ao observador.

As objetivas formam a imagem dos objetos aumentadas pelas lentes oculares, adaptadas numa peça circular chamada revólver. São em número de quatro e proporcionam aumentos de 4x, 10x, 40x e 100x (este último necessita de imersão em óleo adequado). A ampliação final da imagem é o resultado do produto das ampliações produzidas pelas oculares e objetivas. Por exemplo, 7x (na ocular) multiplicado por 4x (na objetiva) gera uma ampliação de 28 vezes.

O aumento total obtido com o microscópio binocular, quando do uso da objetiva de imersão de 100x, pode variar de 500x a 1.500x, dependendo das lentes oculares empregadas e do fator de aumento do corpo binocular.

Existindo o fator de aumento do corpo binocular, multiplica-se o produto acima por esse número; não existindo, considera-se como sendo de 1x.

A experiência tem demonstrado que a clareza de detalhes ou nitidez da microscopia pode diminuir quando se ultrapassa o ponto ótimo de aumento com a ocular, razão pela qual os programas de diagnóstico e controle da malária vêm utilizando a lente ocular de 7x para a pesquisa do plasmódio.

O aumento obtido com oculares de 10x, objetiva de 100x e fator de 1x (resultando em ampliação de 1000x) é o mais utilizado na rotina dos laboratórios das unidades de saúde – apesar de não ser o mais adequado para diagnosticar a malária.

A utilização de objetiva de imersão de 60x é recomendável pois permite observar maior número de elementos normais do sangue e de parasitos por campo microscópico, sendo muito útil para a revisão do diagnóstico microscópico.

O processo de iluminação do microscópio

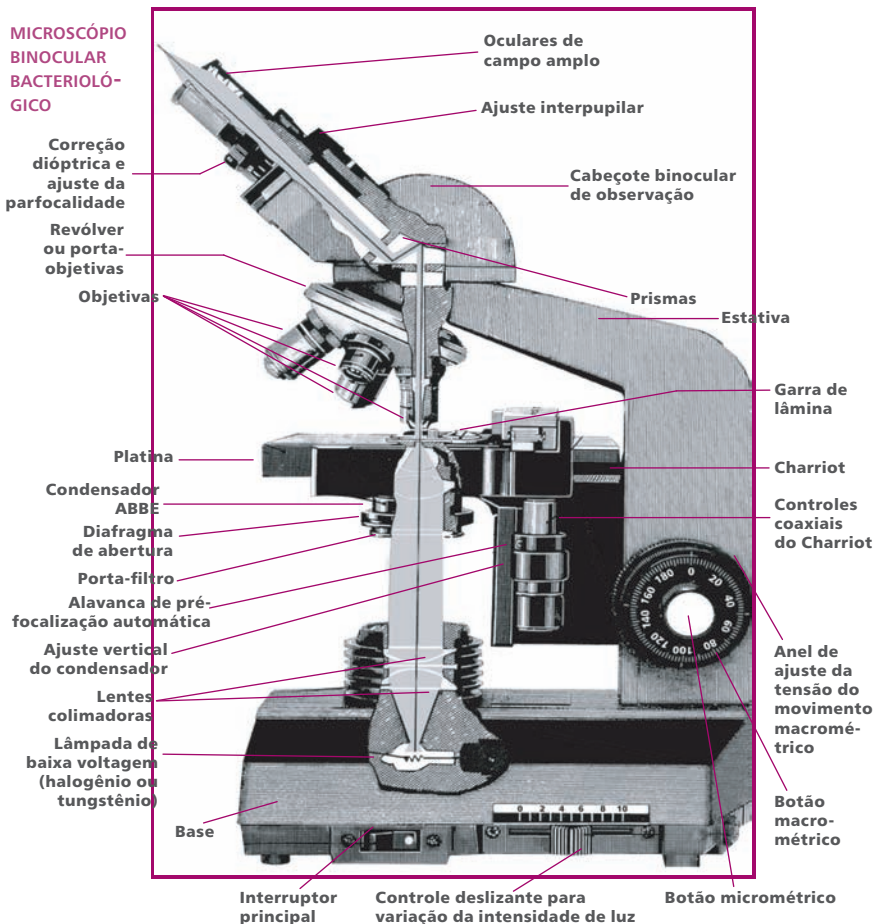
O grau de claridade e nitidez do campo microscópico recebe a denominação de resolução microscópica. A pesquisa do plasmódio exige alto grau de claridade e nitidez para o reconhecimento dos pequenos parasitos da malária numa gota espessa desesemoglobinizada. Em geral, pequenas estruturas e outros microrganismos, após corados, são facilmente identificáveis num fundo de cor contrastante. Para o diagnóstico da malária, entretanto, a iluminação deve produzir um fundo de preparação tão claro e limpo quanto possível, para que contra o mesmo sejam realçados os minúsculos corpos de 0,5 a 2,0 micra de diâmetro, corados de vermelho (núcleo) e azul (citoplasma).

Existem duas formas de iluminação do campo microscópico: a natural e a embutida. A iluminação natural, com luz do dia – recurso útil para locais que não dispõem de iluminação elétrica –, é feita através de um espelho de dupla face (côncava e plana) situado na base do equipamento; a iluminação embutida é feita por aparelho dotado de transformador de baixa voltagem e intensidade variável (110/220V), cujas lâmpadas devem ser halógenas (6V-20 W ou 12V-20W ou 6V- 30W).

O campo microscópico – ou campo de imersão – deve estar uniformemente iluminado com luz branca, ligeiramente azulada. O microscópio, a lâmpada e os filtros devem ser dispostos de modo a obter o máximo de luz possível – que pode ser diminuída à vontade do microscopista, com o auxílio do reostato, diafragma-íris ou levantando-se ou abaixando-se o condensador.

FIGURA 4

MICROSCÓPIO BINOCULAR BACTERIOLÓGICO



FONTE: FAC-SÍMILE DE CATÁLOGO DE EQUIPAMENTOS ÓPTICOS

Para se obter o máximo de eficiência do condensador quando da utilização de microscópio de iluminação com espelho, usar somente a face plana do mesmo.

As superfícies das lentes oculares expostas ao ar são revestidas por uma película azulada anti-reflexo, reduzindo ao máximo a dispersão da luz, o que requer menos luz do que as lentes não tratadas. As superfícies assim revestidas, quando vistas com luz incidente, podem ser distinguidas pela cor azul-violeta.

Técnica de utilização do microscópio

- Colocar a lâmina entre as presilhas da platina mecânica, verificando se ficou firmemente presa à barra móvel da mesma.
- Ajustar a posição da lâmina de modo que uma área do material coincida com o orifício de iluminação da platina.
- Regular o sistema de iluminação do microscópio, fechando um pouco o diafragma-íris ou abaixando o condensador. Regular a intensidade da luz através do reostato ou do balão de vidro, se for o caso.
- Colocar a objetiva de 10x na posição e fazer a focalização com o botão macrométrico até que surjam os leucócitos. Ajustar o foco com o botão micrométrico.
- Examinar com a objetiva até encontrar uma área com maior número de leucócitos, bem corados.
- Uma vez localizada a área adequada, colocar uma gota de óleo de imersão no centro da área iluminada.
- Girar o revólver, colocando a objetiva de imersão (100x) em posição. Levantar o condensador e abrir o diafragma-íris.
- Inclinare a cabeça para um lado, para melhor visualização das objetivas, e usar o botão macrométrico para levantar a platina até que a objetiva toque de leve o óleo de imersão.
- Aproximar os olhos das lentes oculares e, com o auxílio do botão macrométrico, focalizar o material até o aparecimento dos leucócitos, completando a focalização com o botão micrométrico.
- Examinar os campos microscópicos mais corados, movimentando os parafusos de avanço frontal e lateral do carro (*charriot*) com a mão direita e o botão micrométrico com a esquerda (*Obs:* alguns microscópios são fabricados com esses dispositivos em posição invertida).
- Rever os aspectos morfológicos dos elementos figurados do sangue (leucócitos e plaquetas na gota espessa ou leucócitos, hemácias e plaquetas no esfregaço delgado), para avaliar a qualidade da coloração

(Anexo 2 – Imagens das diferentes espécies de plasmódios em esfregaço e gota espessa). Os espaços entre os leucócitos devem ser claros, com ligeiro tom azulado.

- Proceder o exame microscópico do material para detecção dos parasitos da malária.
- Quando completar o exame, baixar a platina, retirar a lâmina e registrar o resultado.
- Colocar a lâmina invertida sobre o papel absorvente, para posterior limpeza sem atrito do material. Não usar xilol nem tolueno para a remoção do óleo de imersão.
- Após a limpeza do óleo de imersão, acondicionar as lâminas em papel adequado e arquivá-las em local próprio, para futuras revisões.

Cuidados com o microscópio

- Ao iniciar o trabalho, limpar as superfícies superiores das lentes oculares e inferiores das objetivas, condensador e espelho (caso exista) com papel macio e absorvente. O pó depositado na parte interna dos tubos do corpo binocular pode ser removido com jatos de ar produzidos por uma pêra de borracha.
- Não usar solventes como álcool, xilol ou tolueno para a limpeza dos componentes do equipamento. O óleo mineral é facilmente removido por papel absorvente, passado sobre a lente de imersão.
- A parte mecânica pode ser limpa com flanela. A lubrificação dos sistemas mecânicos (cremalheiras) é feita com vaselina, não sendo recomendável utilizar óleo.
- Não desmontar as objetivas, oculares, corpo binocular e o sistema macro/micrométrico de focalização, para não desregular o equipamento.
- Manter o microscópio sempre limpo e, após o uso, conservá-lo sob uma capa plástica e/ou na caixa original, sempre com um saco de sílica-gel para proteção contra a umidade.
- Em áreas de elevada umidade, como a Amazônia, a utilização de estufas de madeira, dotadas de uma lâmpada de 25 watts constantemente acesa (que garante uma temperatura entre 30°C e 60°C), é mais eficiente que o uso da sílica e ideal para impedir o desenvolvimento de fungos no sistema ótico do microscópio.

- Transportar, sempre, o microscópio pela estativa (braço), com apoio da mão sob a base, e nunca pelos parafusos.

Limpeza e cuidado das lâminas

Lâminas novas

- Retirar as lâminas da caixa e colocá-las uma a uma num recipiente com álcool a 70%
- Deixar em repouso por 24 horas
- Enxugar uma a uma, com toalha limpa
- Fazer pacotes com 10 unidades, identificar as lâminas novas e colocar a data

Obs: Nunca utilizar lâmina que após ter sido seca apresente vestígios de oxidação.

Lâminas usadas

- Preparar solução contendo 4 colheres (de sopa) de água sanitária comercial para cada litro de água
- Adicionar cerca de 50g (1 colher de sopa, cheia) de sabão em pó a cada litro da solução acima – onde serão mergulhadas as lâminas usadas
- Deixar em repouso por 48 horas
- Limpar uma a uma as lâminas usadas, utilizando esponja, e colocá-las numa bacia com água
- Enxaguar bastante em água corrente
- Enxugar com toalha limpa
- Fazer a seleção: desprezar as quebradas, arranhadas, oxidadas e as azuladas pelo uso continuado de corantes
- Fazer pacotes de 10 unidades, identificar os pacotes como lâminas recuperadas e colocar a data

A PESQUISA DE PLASMÓDIO PELA MICROSCOPIA

A pesquisa de plasmódio pela microscopia pode ser feita tanto na gota espessa de sangue como em esfregaço delgado. Dependendo do objetivo do trabalho, cada um desses recursos oferece vantagens e desvantagens (adiante descritas).

1. O preparo da gota espessa

A melhor preparação para o diagnóstico de malária é obtida com amostra de sangue colhida diretamente por punção digital ou venosa sem anticoagulante. Após a coleta, a lâmina deve ser mantida em temperatura ambiente para secagem da gota de sangue – para tanto, pode-se também utilizar estufa de 37°C ou lâmpada de 25-40 watts sob placa de vidro.

Na prática, a secagem pode ser verificada pelo desaparecimento do brilho da amostra úmida. O sangue colhido com anticoagulante não é indicado para o preparo da gota espessa, por não apresentar boa fixação na lâmina, podendo desprender-se no ato da coloração ou durante a lavagem. Em caso de sangue com anticoagulante, a lâmina deve ser submetida à secagem durante um tempo maior, antes da coloração. O tempo decorrido entre a coleta do sangue e a coloração da amostra não deve ultrapassar três dias, sob o risco de ter sua qualidade prejudicada, haja vista que após esse período a desemoglobinização é dificultada.

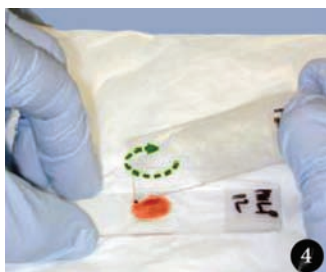
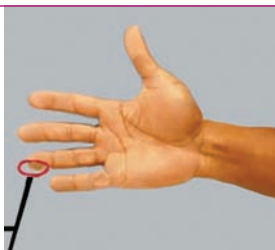
Coleta de sangue e preparo de lâminas para o exame da gota espessa

- Separar duas lâminas limpas, deixando-as em superfície plana e horizontal.
- Preencher os dados do paciente e do examinador, requeridos no formulário.
- Colocar uma das lâminas sobre a superfície plana e manuseá-la pelas extremidades, evitando tocar as superfícies. De preferência, a lâmina deve estar com etiqueta auto-adesiva para o registro da identificação; a opção alternativa é usar lâmina com extremidade esmerilhada, onde a identificação é feita com lápis.
- Calçar luvas de látex descartáveis.
- Limpar vigorosamente a pele do local de punção (parte lateral do segundo ou terceiro dedo da mão, lóbulo da orelha ou, em lactentes, o dedo grande do pé ou calcanhar) com gaze ou algodão embebido em álcool a 70%; posteriormente, enxugar com gaze ou algodão secos.

- Retirar o estilete (lanceta) do envoltório estéril, segurando-o firmemente.
- Segurar o dedo a ser puncionado entre o polegar e o indicador da mão do operador e puncionar o local de maneira firme e leve (Foto 1, abaixo).
- Remover a primeira gota de sangue com gaze ou algodão secos.

FIGURA 5

PUNÇÃO DIGITAL PARA COLETA DE SANGUE PARA PREPARO DE GOTA ESPESSA OU ESFREGAÇO

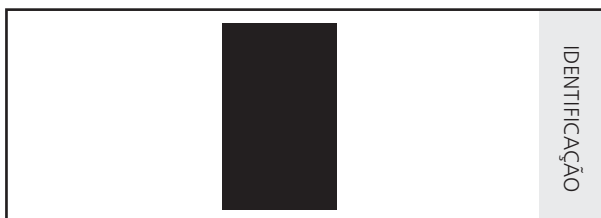


FONTE: RÉPUBLIQUE DÉMOCRATIQUE DU CONGO/MINISTÈRE DE LA SANTÉ/PROGRAMME NATIONAL DE LUTTE CONTRE LE PALUDISME

- Comprimir o dedo suavemente (como em ordenha) para obter outra gota de sangue esférica sobre a pele seca. Cuidar para não tocar o ponto de saída do sangue.
- Segurar a lâmina firmemente pelas bordas da extremidade onde se encontra a etiqueta de identificação. Aproximar a lâmina ao dedo do paciente (pela face onde consta a identificação) até tocar o alto da gota de sangue (evitando o contato com a pele). Se a quantidade de sangue for insuficiente, pode-se colocar outra gota ao lado da primeira.



- Colocar a lâmina, com a face para cima, na superfície de trabalho. Com o canto e os primeiros 5 mm da borda maior da segunda lâmina, espalhar o sangue formando um retângulo de tamanho e espessura adequados: aproximadamente 1,2 cm².



- Limpar o local puncionado com gaze ou algodão embebido em álcool a 70% e, se necessário, pressioná-lo.
- Secar a lâmina (em temperatura ambiente, ar morno, caixa com lâmpada ou estufa), cuidando para que o sangue não se fixe por calor excessivo.
- Para iniciar a pré-coloração, esperar até que o sangue esteja totalmente seco. Caso contrário, pode haver perda total de material.

Para a obtenção de resultado satisfatório na pesquisa de plasmódio pelo exame da gota espessa, alguns aspectos devem ser enfatizados quando da confecção da lâmina:

- O sangue deve estar distribuído o mais homogeneamente possível, para que os elementos sangüíneos e os parasitos se disponham de maneira uniforme em toda a amostra;
- Uma gota espessa adequada deve ter de 1 cm² a 1,5 cm² de superfície, o que aproximadamente equivale a 500 a 800 campos microscópicos, quando se trabalha com aumento de 700 a 800 vezes. Nesse caso, é encontrada uma média de 10 a 20 leucócitos por campo.

Vantagens e desvantagens da gota espessa para a pesquisa de plasmódio

Vantagens:

- Por concentrar maior quantidade de sangue desmembrado numa área relativamente pequena, a gota espessa aumenta a probabilidade de se encontrar parasitos, o que a torna o método de eleição para o diagnóstico de malária (e de outros hemoparasitos);
- Por ser desmembrada, o processo de coloração é mais rápido, permitindo o processamento de grande número de amostras;
- A distribuição dos parasitos e leucócitos se dá ao acaso em toda a amostra. Portanto, pode-se avaliar a parasitemia contando-se o número de parasitos em relação a um determinado número de leucócitos.

Desvantagens:

- Requer experiência para a identificação de espécies, uma vez que a morfologia do parasito altera-se durante o processo de desmembramento;
- Requer processamento parcial ou total relativamente rápido depois de colhida a amostra, para evitar a fixação de hemoglobina, a supercoloração e a descoloração.

2. O preparo do esfregaço delgado

Coleta e preparo do esfregaço delgado (distendido)

- Trabalhar sobre superfície plana e horizontal.
- Usar duas lâminas: uma, para receber a minúscula gota de sangue (1µl aproximadamente); outra, para espalhar o sangue (preferencialmente biselada).

- Calçar luvas de látex descartáveis.
- Limpar vigorosamente a pele do local de punção (parte lateral do segundo ou terceiro dedo da mão, lóbulo da orelha ou, em lactentes, o dedo grande do pé ou calcanhar) com gaze ou algodão embebido em álcool a 70%. Posteriormente, enxugar com gaze ou algodão secos.
- Retirar o estilete (lanceta) do envoltório estéril, segurando-o firmemente.
- Segurar o dedo a ser puncionado entre o polegar e o indicador da mão esquerda do operador.
- Puncionar o local de maneira firme e leve.
- Remover a primeira gota de sangue com gaze ou algodão secos.
- Comprimir o dedo suavemente (como em ordenha) para obter outra pequena gota de sangue esférica sobre a pele seca. Cuidar para não tocar o ponto de saída do sangue.
- Com a mão direita, segurar a lâmina firmemente pelas bordas da extremidade onde se encontra a etiqueta de identificação. Aproximar a lâmina ao dedo do paciente (pela face onde consta a identificação) até tocar o alto da gota de sangue (evitando o contato com a pele).
- Limpar o local puncionado com gaze ou algodão embebido em álcool a 70% e, se necessário, pressionar.
- Com a borda estreita da lâmina biselada em contato com a gota de sangue, formando um ângulo de 50°, espalhar o sangue com um movimento rápido para formar uma camada delgada (se possível, uma única camada de células), sem atingir a outra extremidade da lâmina.
- Deixar secar em temperatura ambiente, na posição horizontal.
- Fixar com algumas gotas de álcool metílico, de modo a cobrir todo o esfregaço, por 1 minuto.

O sangue também pode ser espalhado da seguinte forma:

- Tocar a gota de sangue com a lâmina distensora.
- Colocar a extremidade da lâmina que contém o sangue em contato com a extremidade da lâmina que receberá o esfregaço delgado. Antes que o sangue, por capilaridade, atinja as bordas laterais da lâmina distensora (biselada), faz-se o deslocamento rápido, em ângulo de 50°, para formar a camada fina, sem atingir a extremidade da lâmina.



Vantagens e desvantagens do esfregaço delgado para a pesquisa de plasmódio

Vantagens

- Por fixar as hemácias, permite melhor estudo da morfologia do parasito e das alterações características do eritrócito parasitado, viabilizando conferir o diagnóstico da gota espessa, em situações de dúvida.
- Por ser fixado e não submetido à desmembramento, a perda de parasitos é bem menor que na gota espessa. Essas amostras resistem mais ao atrito quando da remoção do óleo de imersão, são mais duráveis e conservam por muito tempo a coloração original (enquanto que a gota espessa pode facilmente apresentar alteração tintorial).
- Permite a determinação percentual da parasitemia, mediante a contagem de eritrócitos parasitados em 100 hemácias.

Desvantagens

- Por ter menos quantidade de sangue, espalhada em uma única camada, o esfregaço delgado ocupa maior área da lâmina, dificultando o encontro das hemácias parasitadas. Assim, não é indicado para diagnóstico inicial, especialmente em pacientes com parasitemias baixas.
- A distribuição de leucócitos e parasitos não se dá ao acaso (leucócitos maiores e estágios mais avançados dos parasitos localizam-se nas bordas e final de esfregaço). Portanto, precisa-se examinar uma área extensa para detectar todas as formas parasitárias, não estabelecendo uma boa correlação entre o número de parasitos e o de leucócitos.

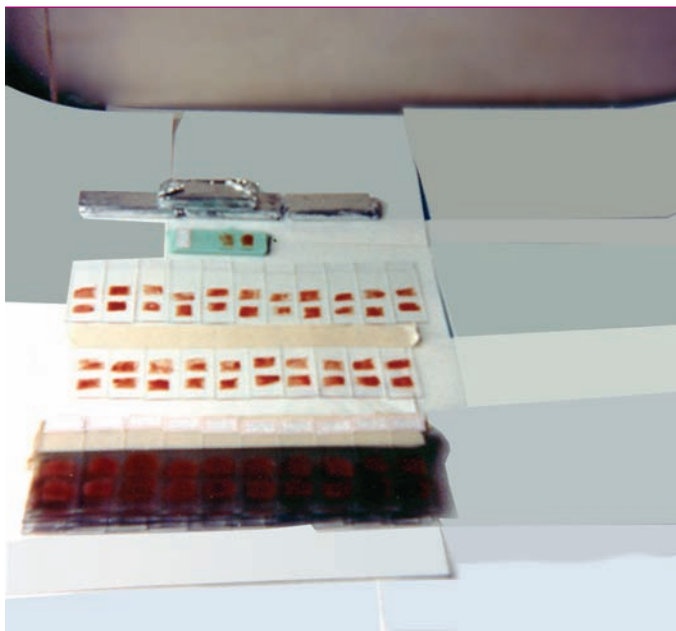


Foto 1

GOTAS ESPES-
SAS DE SANGUE
EM LÂMINAS
DE VIDRO,
NÃO CORADAS

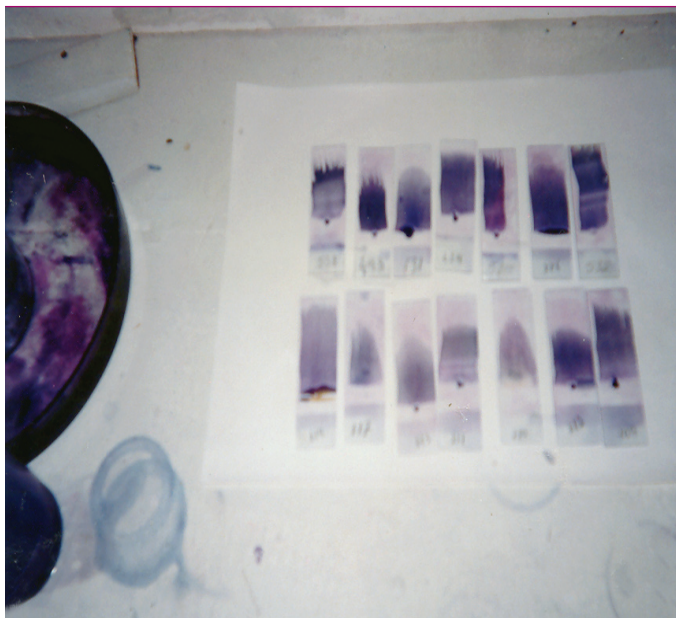


Foto 2

ESFREGAÇOS
DE SANGUE
FIXADOS E
CORADOS PELO
MÉTODO DE
GIEMSA

COLORAÇÃO DAS LÂMINAS

1. Preparo de corantes e diluentes

Preparo da mistura de azul de metileno fosfatado

Azul de metileno medicinal em pó	1,0g
Fosfato de potássio monobásico	1,0g
Fosfato de sódio bibásico	3,0g

Misturar em gral seco.

Preparo da solução fosfatada de azul de metileno

Pesar 1,0g da mistura acima e dissolver em 250ml de água destilada. Conservar a solução em pissetas (frasco plástico de lavagem).

Preparo da mistura de sais fosfatados

Fosfato de potássio monobásico	4,0g
Fosfato de sódio bibásico	6,0g

Misturar em gral seco.

Preparo da água tamponada a 6/4

Pesar 1,0g da mistura de sais fosfatados, acima descrita, e dissolver em 1.000ml de água destilada. Conservar a solução em pissetas.

Preparo da solução alcoólica de Giemsa

Giemsa em pó	0,75g
Glicerol PA	35ml
Álcool metílico PA	65ml

Colocar a solução num frasco com algumas pérolas de vidro e agitar várias vezes ao dia, até obter a homogeneização. Esta solução deve ser feita em maior volume e mantida em estoque. Para o uso diário, a solução alcoólica deve ser colocada em pequeno frasco conta-gotas, evitando-se sua abertura por tempo prolongado.

Obs: Existem, no mercado, soluções de Giemsa preparadas, caráter PA.

Preparo do corante de Wright (para coloração dos esfregaços delgados)

Wright em pó	0,10g
Álcool metílico PA	100ml

Colocar o corante num frasco com algumas pérolas de vidro e agitar várias vezes ao dia, até obter a homogeneização.

2. Técnica de coloração das lâminas

Método de Walker para coloração da gota espessa

Material necessário: placa de acrílico para coloração; pisseta com solução fosfatada de azul de metileno; frasco conta-gotas com solução alcoólica de Giemsa; pisseta com água tamponada.

1ª fase: Desemoglobinização pela solução hipotônica de azul de metileno

- Aplicar a solução de azul de metileno fosfatado sobre a gota espessa de sangue, por dois segundos.
- Enxaguar a lâmina com água tamponada (sem jato forte).

2ª fase: Coloração pela solução de Giemsa

- Colocar a lâmina com o lado da gota voltada para a superfície da placa de coloração.
- Preparar uma solução de Giemsa na proporção de uma gota de corante para 1ml de água tamponada. Homogeneizar.
- Aplicar esta solução na placa côncava de coloração, sob a lâmina invertida.
- Deixar corar por 10 minutos.
- Enxaguar com água tamponada (sem jato forte).
- Secar ao calor suave ou sob ventilação.

Neste método não é recomendável imergir a lâmina na solução azul de metileno (pré-coloração) e na água tamponada (lavagem) em copos, em virtude da contaminação destas soluções repetidamente usadas por vários dias, favorecendo a proliferação de bactérias e fungos. Para evitar esta desvantagem, utilizar as soluções contidas em pissetas para enxaguar as amostras de sangue. O aumento do consumo é compensado com a boa qualidade das preparações, livre de artefatos e contato com soluções contaminadas por sangue.

Método de Giemsa para coloração da gota espessa

- Colocar a lâmina com o lado da gota voltada para a superfície da placa de coloração.
- Preparar uma solução de Giemsa na proporção de uma gota de corante para 1ml de água tamponada. Homogeneizar.
- Aplicar esta solução na placa côncava de coloração, sob a lâmina invertida.
- Deixar corar por 20 a 30 minutos.
- Enxaguar com água tamponada (sem jato forte).
- Secar ao calor suave ou sob ventilação.

Coloração do esfregaço pelo método de Giemsa

- Fixar o esfregaço com álcool metílico por um minuto.
- Deixar secar.
- Colocar a lâmina invertida sobre a placa de coloração.
- Despejar a diluição do corante de Giemsa na proporção de uma gota do corante para 1ml de água tamponada.
- Deixar corar por 20 a 30 minutos.
- Enxaguar com jato forte de água tamponada.
- Secar ao calor suave ou sob ventilação.

Coloração do esfregaço (distendido) pelo método de Wright

- Cobrir a lâmina com solução de Wright.
- Deixar corar por 3 minutos.
- Adicionar algumas gotas de água destilada ou tamponada.
- Misturar (borrifar ar com o auxílio de uma pisseta vazia ou pêra de borracha).
- Deixar corar por mais 7 minutos.
- Enxaguar com jato forte de água destilada ou tamponada.
- Secar em temperatura ambiente.

3. Avaliação da qualidade de coloração da gota espessa

Desemoglobinização

Quando a desemoglobinização é adequada, os elementos figurados do sangue e os parasitos, quando presentes, aparecem sobre fundo claro.

Espessura da gota

Cada campo microscópico (imersão em óleo) deve apresentar de 10 a 20 leucócitos, em média.

Coloração propriamente dita

As cores dos elementos normais do sangue devem ser avaliadas de acordo com o seguinte roteiro:

- Os restos das hemácias e reticulócitos devem estar corados em azul-claro
- As plaquetas devem corar-se de rosa-vivo ao violeta
- Os núcleos de leucócitos geralmente coram-se de azul-escuro ao violeta
- Os grânulos finos dos neutrófilos coram-se ora em rosa, ora em azul-violeta
- Os grânulos grossos dos eosinófilos coram-se em vermelho-cobre
- O citoplasma dos linfócitos coram-se em azul-pálido
- Os monócitos apresentam-se com fino estroma cinza-azulado

No exame da gota espessa, se o fundo estiver bem claro a cromatina dos parasitos cora-se em vermelho e o citoplasma em azul. O pigmento malárico, que normalmente não se cora, também aparece com nitidez e sua cor varia do castanho ao negro, sendo mais visível nas preparações descordadas e no sangue examinado a fresco. Apresenta-se como massa fina, difusa e castanha, ou na forma de pequena massa compacta, arredondada e escura.

4. Avaliação da qualidade de coloração do esfregaço

O exame de esfregaço deve ser feito, preferencialmente, na parte mais fina (cauda) do esfregaço, onde as hemácias estão dispostas numa só camada, com as bordas separadas ou apenas com leve contato e sem superposição, sendo facilmente observada a camada única de células fixadas formando “franjas”. A detecção de baixas parasitemias requer o exame de todo o esfregaço.

As seguintes características devem ser observadas para a avaliação da qualidade de coloração do esfregaço:

- A coloração do esfregaço depende da espessura da camada de hemácias, bem como do método de coloração.
- O esfregaço deve apresentar uma película fina e uniforme que não atinge as bordas, com diminuição progressiva da quantidade de sangue em direção ao final da lâmina, sem alcançar a extremidade da mesma mas formando franjas.
- A cor do esfregaço pode variar do cinza-claro ao rosa-pálido.
- Leucócitos: núcleo azul-escuro ou púrpura e o citoplasma dos neutrófilos, granulações finas azul e rosa; os eosinófilos apresentam-se com granulações grosseiras, podendo corar-se em tom rosa-avermelhado.
- Plaquetas: azul ou púrpura.
- Plasmódios: a cromatina nuclear cora-se em vermelho ou púrpura; o citoplasma, em azul-claro, com variações que dependem da espécie e idade do parasito.
- Granulações de Schüffner: rosa ou vermelha. Sua presença, claramente definida nas hemácias parasitadas pelo *P. vivax* ou *P. ovale*, é bom indicador de coloração satisfatória.

Obs: O aparecimento das granulações de Schüffner, bem características nas hemácias parasitadas pelo *P. vivax* ou *P. ovale*, depende do pH da água tamponada e do tempo de coloração (pH 7,0 a 7,2 e tempo superior a 30 minutos). A visualização das granulações de Schüffner é maior na periferia da gota espessa e camada delgada (esfregaço), principalmente nas amostras de sangue com anticoagulante.

CARACTERÍSTICAS
DAS DIFERENTES ESPÉCIES
DE PLASMÓDIOS ENCONTRADOS
NO SANGUE PERIFÉRICO

Individualmente, os parasitos do gênero *Plasmodium* variam em tamanho, forma e aparência, confundindo-se com elementos estranhos, contaminantes das amostras de sangue, como fungos, bactérias, etc. (Anexo 1 Figura 1/1 – Elementos que podem confundir o diagnóstico de malária).

Em alguns casos, no exame da gota espessa as formas de determinada espécie se assemelham muito às de outras (anéis, pré-esquizontes e gametócitos arredondados). A única forma que se pode considerar como típica nesse exame é o gametócito de *P. falciparum*, que apresenta-se em forma de “banana”, “crescente” ou “salsicha”. Ainda assim torna-se frequentemente arredondado (em vista da secagem do sangue ser demorada em clima quente e úmido), com aparência de formas de outras espécies (*P. vivax* e *P. malariae*).

A comparação entre o tamanho das formas evolutivas dos plasmódios, de acordo com a variação de crescimento de cada espécie e o tamanho do linfócito pequeno (microlinfócito), cujo diâmetro se aproxima do diâmetro do glóbulo vermelho, pode auxiliar no diagnóstico da espécie.

1. *Plasmodium falciparum*

- **Trofozoíto jovem:** em forma de pequeno anel ou às vezes aberto, formando vírgulas, regulares, ligadas a uma, duas e até três pequenas massas de cromatina. Ausência de pigmento malárico.
- **Trofozoíto maduro** (forma rara): compacto, com aspecto sólido, sem vacúolo ou com pequeno vacúolo. Coloração mais escura que o mesmo estágio das outras espécies. Massa única de pigmento malárico, cuja cor varia do castanho ao negro.
- **Esquizonte:** redondo e de tamanho variado. Apresenta duas ou mais massas de cromatina e massa única de pigmento malárico. Comumente, não é visto em amostra de sangue periférico. Pode aparecer em infecções graves por esta espécie, assim como em pacientes esplenectomizados. Cada esquizonte pode apresentar de 8 a 40 merozoítos (cromatinas), usualmente de 16 a 24, assimetricamente arranjados.
- As hemácias parasitadas podem apresentar-se com a superfície irregular, sem granulações de Schüffner nem aumento do diâmetro. Parasitemias mais altas são comuns nesta espécie. O parasitismo múltiplo da hemácia é comum nas infecções graves.
- Os parasitos invadem hemácias jovens, maduras e velhas.

- O pigmento malárico pode ser encontrado nos leucócitos circulantes, sendo sinal de alerta para infecção grave.
- O gametócito do *P. falciparum*, em forma de “banana”, “crescente” ou “salsicha”, é considerado típico dessa espécie. Entretanto, pode ficar arredondado quando a secagem da lâmina for demorada – por exemplo, nos locais de clima quente e úmido –, podendo confundir-se com formas de outras espécies. Os gametócitos aparecem por volta da segunda semana da parasitemia assexuada e podem permanecer no sangue periférico de 5 a 7 semanas.
- Rotineiramente, as únicas formas parasitárias do *P. falciparum* encontradas na leitura de uma lâmina de gota espessa são anéis (trofozoítos jovens e maduros) e gametócitos (em forma de banana).
- Nos casos de malária grave, podem ser encontradas todas as formas evolutivas descritas, acompanhadas de esquizontes, geralmente nos casos de elevada parasitemia devida à doença por mais de uma semana.
- O encontro de parasitos pequenos, médios e grandes é sinal de mais de uma geração, sendo raras as parasitemias sincrônicas, isto é, crescimento uniforme de uma única camada. A coleta de sangue realizada em diferentes horários pode acarretar resultados contraditórios, positivos ou negativos. Por isso, em alguns casos suspeitos, recomenda-se a coleta das lâminas em diferentes horários.

2. *Plasmodium vivax*

- **Trofozoíto jovem:** em forma de anéis pequenos, às vezes abertos, mostrando apenas uma massa de cromatina (raramente duas). Pode ser confundido com os trofozoítos jovens do *P. falciparum*. Ausência de pigmento malárico. Os anéis podem ser maiores e, nesse caso, apresentam vacúolo claramente definido.
- **Trofozoíto maduro:** grande, amebóide e com vacúolo presente. Grânulos finos de pigmento malárico escuro no citoplasma, geralmente identificados como formas irregulares.
- **Esquizonte:** grande, redondo e com menos de 12 núcleos (cromatinas) quando ainda jovem. Grânulos de pigmento fino, escuro e difuso pelo citoplasma. Quando maduro, apresenta 12 a 24 merozoítos (cromatinas maiores), irregularmente arranjados. Grânulos de pigmento malárico visualizado, às vezes, como pequena massa escura numa parte do citoplasma.

- **Gametócito:** redondo ou oval, com única massa de cromatina triangular ou redonda, tamanho variável. Pigmento malárico fino, difuso e escuro sobre o citoplasma. As formas mais evoluídas podem ser maiores que o microlinfócito.
- As hemácias parasitadas geralmente são jovens (reticulócitos) e apresentam granulações de Schüffner. Seu diâmetro pode estar aumentado pelo tamanho do parasito.
- Não apresenta pigmento malárico fagocitado por leucócitos no sangue periférico.
- No exame da lâmina de um paciente com malária causada por *P. vivax* são encontradas todas as formas evolutivas dessa espécie: anéis (trofozoítos jovens), formas irregulares (trofozoítos maduros), esquizontes e gametócitos.

3. *Plasmodium malariae*

- **Trofozoito:** pequeno, redondo e compacto. Anéis de forma regular, com cromatina relativamente grande. Pigmento malárico mais evidente nas formas mais compactas. Pode ou não apresentar vacúolo. Quando maduro, apresenta massa de cromatina maior e grânulos grossos e escuros de pigmento malárico.
- **Esquizonte:** quando jovem, apresenta menos de 8 núcleos, sem citoplasma evidente. Grânulos de pigmento malárico grossos, sem formação de massa compacta. Quando maduro, tem de 8 a 12 merozoítos (cromatinas), às vezes em torno de uma massa compacta e escura de pigmento malárico (forma de rosácea). Os núcleos podem aparecer bem separados, sem citoplasma e espalhados de modo irregular.
- **Gametócito:** semelhante ao trofozoito maduro. Massa grande de cromatina, forma compacta, regular e bastante pigmento malárico grosso e escuro.
- Hemácia parasitada não aumentada e sem granulações de Schüffner. Invade preferencialmente hemácias velhas.
- No exame da lâmina de um paciente com malária causada por *P. malariae* são encontradas todas as formas evolutivas dessa espécie: anéis (trofozoítos), esquizontes e gametócitos.
- No esfregaço delgado, o trofozoito maduro apresenta-se como “banda” ou “faixa” equatorial sobre a hemácia.

4. *Plasmodium ovale*

- **Trofozoíto:** quando jovem, pode parecer-se com o trofozoíto do *P. vivax* ou do *P. malariae*. Possui anéis com citoplasma compacto, podendo apresentar vacúolo. Quando maduro, apresenta-se redondo, com massa de cromatina de tamanho variável. Pigmento malárico escuro, porém mais claro que o de *P. vivax* e *P. malariae*.
- **Esquizonte:** com aproximadamente 6 a 8 merozoítos, distribuídos irregularmente ou em torno de uma massa compacta e escura de pigmento malárico, em aspecto de rosácea, semelhante ao do *P. malariae*.
- **Gametócito:** redondo ou oval, com única massa grande de cromatina. Grânulos de pigmento escuro.
- Hemácia parasitada pouco aumentada e com granulações de Schüffner, sendo os grânulos mais espalhados. A presença de granulações de Schüffner distingue esta espécie do *P. malariae*. A hemácia parasitada é ovalada.
- No exame da lâmina de um paciente com malária causada por *P. ovale* são encontradas todas as formas evolutivas dessa espécie: anéis (trofozoítos), esquizontes e gametócitos.

**COLORAÇÃO DAS
GRANULAÇÕES DE *SCHÜFFNER***

A natureza das granulações de Schüffner é ainda desconhecida. São grânulos de cor rósea surgidos nas hemácias parasitadas pelo *P. vivax* e *P. ovale* quando coradas pelos corantes de Romanowski, segundo os métodos de Giemsa, Walker/Giemsa, Wright, Maygrunwald/Giemsa e Romanowski modificado.

Observou-se que essas granulações assemelham-se às do citoplasma dos leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos). Seu aparecimento, forma, tamanho, quantidade e distribuição nas hemácias parasitadas varia com a qualidade da amostra de sangue, a espécie e o estágio do plasmódio, o pH do diluente, a qualidade do corante, o método e o tempo de coloração.

O exame da gota espessa e/ou do esfregaço revela as granulações de Schüffner nas hemácias parasitadas vistas da periferia até a parte central, ou apenas nas camadas mais finas de hemácias, sendo mais coradas em meio alcalino (pH 7,2) e maior tempo de coloração.

Na maioria das preparações da gota espessa, as granulações de Schüffner não aparecem em virtude do pH ácido do diluente e menor tempo de coloração, sendo o *P. vivax* identificado pelas formas irregulares, pigmento malaríco e algumas formas maiores que o microlinfócito. Algumas hemácias parasitadas por trofozoítos jovens podem não apresentar as granulações de Schüffner, mas com *P. ovale* todas têm essas granulações, mais grossas e em menor número quando comparadas às das hemácias dilatadas com *P. vivax* (que são finas). A identificação do *P. ovale* torna-se difícil sem a coloração das granulações de Schüffner e a visualização da hemácia parasitada em virtude da semelhança de formas evolutivas comparadas com as do *P. malariae* e algumas do *P. vivax* não irregulares.

A coloração das granulações de Schüffner é preservada por muitos anos, com ou sem montagem das preparações com resinas sintéticas. Recentemente, na montagem dessas preparações vem sendo experimentada a resina Superbonder® e a substituição da lamínula de vidro por celofane.

Camadas

Nas infecções maláricas, chamam-se camadas a presença assincrônica das populações de parasitos encontrados no sangue periférico.

Faz-se necessário um período mínimo de tempo para que a esquizogonia se complete. No fígado, ela pode ser retardada por alguns dias; no sangue periférico, retardada ou antecipada em algumas horas. Em conse-

qüência dessas variações, geralmente se registra a presença de parasitos em diferentes estágios de desenvolvimento no sangue periférico. Contudo, nem sempre é possível observar todas as diferentes fases quando do exame rotineiro da gota espessa, haja vista que, em alguns casos, os parasitos são raros e essa variação não aparece nos campos microscópicos.

Sempre que um número suficiente de parasitos completa sua esquizogonia ao mesmo tempo ou com diferença de algumas horas, produzem-se sintomas clínicos nos pacientes não-imunes ou semi-imunes. Conforme a geração predominante, os sintomas se apresentam a cada 48 horas nas infecções por *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale*; ou a cada 72 horas nas infecções pelo *P. malariae*.

A ocorrência de sintomas de maior intensidade inicia-se com calafrio, acompanhado de tremor generalizado. Esta fase, acompanhada de febre, cefaléia, náuseas e vômitos pelo menos uma vez por dia indica a presença de duas ou mais camadas. Por isso, no início, é possível e não raro que o paciente tenha um acesso dos sintomas clínicos por dia, o que significa que o quadro clássico da infecção está “descompassado”, em vista da ocorrência de pelo menos um quadro adicional. Entretanto, essa situação não costuma perdurar pois, uma vez estabelecida a geração predominante, os parasitos da(s) outra(s) são suprimidos e, assim, não são suficientemente numerosos para causar sintomas.

O *P. vivax* jovem movimenta-se livremente em todo o interior da hemácia, lançando pseudópodos citoplasmáticos que atingem todas as partes da mesma. A cromatina aparece apenas em uma parte do citoplasma, talvez a maior. As demais partes podem ser desprezadas; os diminutos fragmentos de citoplasma ligados ao fragmento que contém a cromatina são demasiado delgados para ser vistos. A confusão freqüentemente verificada na identificação do *P. vivax* e do *P. malariae* deve-se ao fato de que os fragmentos densos, que contém a cromatina, são tomados pelo parasito inteiro.

Para se verificar o que constitui o parasito inteiro numa gota espessa, faz-se muitas vezes necessário considerar tudo quanto se encontra dentro de uma área semelhante ao tamanho do maior leucócito polimorfonuclear observado em dado momento na mesma amostra de sangue.

A hemácia invadida pelo *P. vivax*, ao invés de adquirir viscosidade na membrana, apresenta uma série de granulações em todo o seu estroma – denominadas granulações de Schüffner, têm tamanho, forma e distribuição regulares. A princípio pequenas, tornam-se maiores e mais evidentes

conforme o grau de exposição do sangue ao corante. Após a coloração, assumem um tom avermelhado. Ressalte-se que essas granulações só ocorrem nas hemácias parasitadas pelo *P. vivax* e *P. ovale*.

Gametócitos ou grandes mononucleados aparecem no sangue desde o início da infecção, com variação apenas de tamanho.

A forma mais evoluída torna-se mais redonda e regular, sendo difícil identificar o gametócito adulto ou pré-esquizonte. Pode-se observar na gota espessa, à medida em que o *P. vivax* amadurece, que a forma torna-se redonda e regular, compacta e com bastante pigmento malárico, que às vezes se confunde com *P. malariae*.

As parasitemias baixas são mais raras do que nos casos por *P. falciparum*, sendo mais fácil a detecção em amostras bem coradas pela presença das granulações de Schüffner. As infecções mistas de *P. vivax* + *P. falciparum* são freqüentes com gametócitos de *P. falciparum* (V + Fg), sendo raras com somente formas assexuadas de *P. falciparum* (F + V) e baixa parasitemia das duas espécies assexuadas associadas.

**MÉTODOS DE
QUANTIFICAÇÃO
DA PARASITEMIA**

1. Método tradicional de avaliação semiquantitativa (em cruces)

Critérios

- Número de campos a examinar: 100.
- Número inferior a 40 parasitos nos 100 campos examinados: anotar o número encontrado. Por exemplo: 37 V.
- Quando o número total de parasitos contados situar-se entre 40 e 60 parasitos por 100 campos, registrar: +/2 (meia cruz).
- A partir de um parasito por campo, o resultado será registrado como uma, duas, três ou quatro cruces, conforme o quadro a seguir:

Parasitos contados	Número de campos microscópicos	Cruces
40 a 60	100	+/2
1	1	+
2 – 20	1	++
21 – 200	1	+++
+ 200	1	++++

2. Método de avaliação quantitativa pela contagem de 100 campos microscópicos

Critérios

- Número de campos a examinar: 100.
- Usar ocular de 7,5x ou 10x e 100x na objetiva do microscópio.
- Assumir que nessas condições de leitura 100 campos microscópicos equivalem a 0,2 microlitros (μl) de sangue.
- Multiplicar por 5 o número de parasitos encontrados nos 100 campos examinados.
- Registrar o número encontrado no cálculo acima como a parasitemia por μl de sangue. Assim, o encontro de um único parasito em 100 campos examinados significa 5 parasitos/ μl de sangue.

3. Estimativa da parasitemia a partir da avaliação semiquantitativa

Crítérios

- Número de campos a examinar: 100.
- Classificar a parasitemia em cruces, de acordo com o método tradicional de avaliação semiquantitativa, anteriormente mencionado.
- Registrar o intervalo de parasitemia por μl , conforme o quadro a seguir, lembrando que 100 campos microscópicos equivalem a $0,2\mu\text{l}$ de sangue:

Parasitas por campo	Cruzes	Parasitas p/ mm^3
40 a 60/100	+/2	200 - 300
1	+	301 - 500
2 - 20	++	501 - 10.000
21 - 200	+++	10.001 - 100.000
+ 200	++++	100.000 ou mais

4. Método de avaliação relativa à contagem de leucócitos por campo

Crítérios

- Número de campos a examinar: aqueles que levem ao alcance do número de leucócitos padronizado. Em geral, contam-se 200 leucócitos.
- Contar simultaneamente o número de parasitos assexuados, até alcançar 200 leucócitos.
- Assumindo uma leucometria padrão de 6.000 leucócitos/ μl de sangue para todo paciente com malária, realizar uma regra de três para obter a parasitemia/ μl de sangue. Por exemplo:

Se encontrarmos 50 parasitos assexuados contra 200 leucócitos, teremos x parasitos para 6.000 leucócitos

$$\begin{array}{ccc}
 50 & \begin{array}{c} \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} \\ \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} \end{array} & 200 \\
 X & \begin{array}{c} \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} \\ \xrightarrow{\hspace{1.5cm}} \end{array} & 6.000
 \end{array}$$

Então $x = (50 \times 6.000) \div 200 = 1.500$ parasitos/ μl .

5. Método de avaliação pelo percentual de hemácias parasitadas (utilizado apenas para esfregaço delgado)

Critérios

- Número de campos a examinar: aqueles que levem ao alcance do número de 500 hemácias (em geral, de 5 a 10 campos).
- Contar simultaneamente o número de parasitos assexuados, até alcançar 500 hemácias.
- Realizar uma regra de três para obter a parasitemia percentual. Por exemplo:

Se encontrarmos 50 parasitos assexuados contra 500 hemácias teremos um percentual de 10% de hemácias parasitadas, ou seja,

$$50 \longleftrightarrow 500$$

$$(50 \div 500) \times 100 = 0,1 \times 100 = 10\%$$

Esse resultado equivale, em um indivíduo com 5.000.000 de hemácias por microlitro de sangue, a uma parasitemia de 500.000 parasitos/ μl de sangue.

REGISTROS DE RESULTADOS DO EXAME MICROSCÓPICO

1. Resultados positivos

Os resultados do exame parasitológico da gota espessa para as diferentes espécies de plasmódios são registrados nos formulários do Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica – Sivep/Malária, pelas respectivas iniciais, conforme o quadro a seguir:

Registro	Descrição do resultado
V	<i>P. vivax</i>
F	<i>P. falciparum</i>
M	<i>P. malariae</i>
Ov	<i>P. ovale</i>
F + Fg	Formas assexuadas + sexuadas (gametócitos) de <i>P. falciparum</i>
Fg	Somente gametócitos
V+Fg	Formas de <i>P. vivax</i> + gametócitos de <i>P. falciparum</i>
F+V F+M V+M	Para diferentes combinações de infecções mistas

Obs: Em caso de infecção mista, registrar em primeiro lugar a inicial da espécie dominante. Exemplo:

15.000F-3Fg-500V (+++F 3Fg +V);

5.000V-60M (++V 60M)

Quando do encontro de esquizontes e formas assexuadas mais evoluídas de *P. falciparum*, indicativas de malária grave, é importante assinalar a sua presença, bem como o achado de pigmento malárico fagocitado por leucócitos.

Na rotina, uma infecção mista F+V é aquela na qual encontramos a presença simultânea de anéis (trofozoítos jovens), formas irregulares (trofozoítos maduros) de *P. vivax* e gametócitos (forma de banana) de *P. falciparum*. Se o exame da lâmina de gota espessa revelar grande quantidade de formas em anel (trofozoítos jovens), associadas a formas irregulares (trofozoítos maduros de *P. vivax*) em quantidade bem menor, por exemplo, 20.000 anéis para 2.000 formas irregulares, mesmo na ausência do gametócito em forma de banana (*P. falciparum*), deve-se suspeitar de uma infecção mista F+V e comunicar o fato ao terapeuta, utilizando o formulário de resultados.

2. Resultados negativos

Como em qualquer exame microscópico, um resultado negativo deve ser emitido somente após minucioso exame da lâmina. No caso da gota espessa, para não deixar de detectar baixas parasitemias, bem como para garantir o diagnóstico das infecções mistas, torna-se necessário examinar mais de 100 campos microscópicos (500 campos seria o ideal), sobretudo se existir forte suspeita de malária (clínica e epidemiologia favoráveis).

O exame de uma gota espessa “padrão” durante 10 minutos é suficiente para se checar aproximadamente 500 campos, possibilitando o registro de um resultado negativo com maior segurança. A conclusão diagnóstica pelo encontro de um único parasito na preparação deve ser feita com cautela. Recomenda-se concluir o diagnóstico somente após o encontro de dois ou três parasitos, bem como repetir o exame em diferentes horários, para aumentar sua sensibilidade.

TESTES RÁPIDOS PARA O DIAGNÓSTICO DE MALÁRIA

Apesar do exame da gota espessa apresentar inquestionável vantagem para o diagnóstico, uma série de fatores pode interferir nos resultados obtidos, entre eles: a habilidade técnica no preparo da lâmina, seu manuseio e coloração; qualidade ótica e iluminação do microscópio; competência e cuidado por parte do microscopista; grau de parasitemia.

Considerando-se esses fatores, realizar o diagnóstico específico de malária torna-se difícil em muitos locais, seja pela precariedade dos serviços de saúde, seja pela dificuldade de acesso da população aos centros de diagnóstico. Por esta razão, nos últimos 15 anos métodos rápidos, práticos e sensíveis vêm sendo desenvolvidos.

Em 1986, uma proteína rica em histidina, denominada Pf-HRP2, foi identificada no *P. falciparum*. Posteriormente, verificou-se sua presença no plasma de pacientes agudamente infectados com *P. falciparum*. A partir de 1993, houve grande desenvolvimento de testes imunocromatográficos baseados na captura qualitativa da Pf-HRP2. Sua desvantagem é a permanência da proteína circulante por tempo prolongado, dando resultado positivo em indivíduos já tratados da doença.

Mais recentemente, métodos de diagnóstico rápido da malária foram desenvolvidos utilizando anticorpos monoclonais e policlonais dirigidos contra a proteína Pf-HRP2 e contra a enzima desidrogenase láctica (pDHL) das quatro espécies de plasmódio. Estes testes têm a vantagem de diferenciar o *P. falciparum* das demais espécies, as quais são identificadas como não-*P. falciparum*.

A pDHL é uma enzima intracelular produzida em abundância pelos parasitos vivos, o que permite diferenciar a fase aguda e a convalescença da infecção. Possui alta sensibilidade e alta especificidade, sendo útil para a triagem e, mesmo, confirmação diagnóstica da malária, principalmente para turistas que visitam as áreas endêmicas. Como desvantagem não permite o diagnóstico de uma infecção mista.

Alguns exemplos comerciais desses testes são descritos a seguir.

1. Testes exclusivos para o diagnóstico de *P. falciparum*

ParaCheck-Pf® e Malar-Check® – baseiam-se na detecção, no sangue do paciente, da proteína Pf-HRP2, através de anticorpos monoclonais. A reação é revelada macroscopicamente em fita de nitrocelulose, por reação enzimática.

2. Testes que discriminam o *P. falciparum* de outras espécies

ICT-PfPV[®] e OptiMal[®] – também realizados em fita de nitrocelulose, consistem na detecção, por imunocromatografia, de enzima desidrogenase láctica (pDHL) específica do gênero *Plasmodium*, e de outra específica do *P. falciparum* (Pf-DHL), presente no sangue total do paciente. Estes testes possibilitam diferenciar uma infecção causada pelo *P. falciparum* de outra causada por uma ou mais espécies não-*P. falciparum* – entretanto não possibilitam identificar as espécies causadoras de malária mista.

3. Diagnóstico pela detecção do DNA do parasito

Com o desenvolvimento da tecnologia de amplificação do DNA dos plasmódios usando a reação em cadeia da polimerase (PCR), o diagnóstico da malária baseado na detecção de ácido nucléico mostrou grande progresso em termos de eficácia. Além disso, com a extensa utilização da PCR para o diagnóstico de outras doenças, as técnicas de extração e purificação de DNA foram aprimoradas e simplificadas. O diagnóstico de malária através da PCR ainda é restrito aos grandes laboratórios, em virtude do custo elevado, reagentes necessários e alta complexidade técnica.

**ELEMENTOS FIGURADOS
NORMAIS DO SANGUE**

1. Eritrócitos ou hemácias (glóbulos vermelhos)

Dentre os elementos que compõem o sangue estão os eritrócitos ou hemácias, que são os glóbulos vermelhos, células anucleadas que vivem, no máximo, 120 dias. Derivam da célula-tronco da medula óssea e, ao serem liberados no sangue periférico, contêm resquícios de núcleo, sendo chamados reticulócitos. Esses elementos possuem policromasia (basofilia ponteadas) e desaparecem entre 1 e 3 dias após a liberação pela medula.

Durante o procedimento de coloração da gota espessa de sangue para a pesquisa de plasmódio, os eritrócitos são lisados pela solução fosfatada de azul de metileno. Desta forma, aparecem no campo microscópico como resíduos de glóbulos vermelhos ligeiramente azulados.

No caso dos reticulócitos, as células variam na aparência, desde uma fina camada até densos grânulos azuis de vários tamanhos, correspondendo ao resquício nuclear da célula.

Em pessoas normais são encontradas de uma a três dessas formas, podendo apresentar-se em maior número em pacientes com reticulocitose provocada por maior resposta eritropoiética da medula óssea, tais como nos processos hemolíticos (como na malária) e hiperesplenismo.

2. Leucócitos (glóbulos brancos)

Os leucócitos ou glóbulos brancos são transparentes e muito brilhantes, podendo apresentar movimento no seu citoplasma. Em geral, seus núcleos têm a tonalidade azul-violeta carregado. Variam de tamanho e forma e o citoplasma pode ser claro ou granuloso, de acordo com o tipo da célula. Sua vida é curta (de 3 a 5 dias) e a aparência de alguns tipos polimorfonucleares varia desde elementos compactos, perfeitamente definidos e bem corados, até grandes células, pálidas, irregulares e, muitas vezes, deformadas.

3. Plaquetas (trombócitos)

As plaquetas sangüíneas não têm núcleo. São fragmentos do citoplasma de uma espécie de célula gigante da medula óssea, chamada megacariócito. Podem apresentar-se isoladas ou em grupos. São de diferentes densidades na mesma lâmina, bem como de tamanho e forma, mas a cor varia do rosa

ao violeta (nunca azul) em amostras diferentes. Podem não ser identificadas em sangue secado lentamente ou desfibrinado. Se as lâminas forem coradas após decorrido muito tempo da coleta, as plaquetas podem adquirir coloração suficientemente forte para prejudicar a visualização de pequenos parasitos.

4. Importância da avaliação dos elementos normais do sangue

Somente quando os elementos normais do sangue surgem em suas cores próprias, pode-se esperar que qualquer parasito presente na lâmina tenha também suas cores próprias. Assim, se os núcleos dos leucócitos forem muito vermelhos em certa área da amostra, é improvável que se veja cor azul no citoplasma dos parasitos. Por outro lado, se os leucócitos forem muito azuis, não é provável que a cromatina do parasito apresente cor vermelha suficiente. Contudo, não se deve deixar de considerar que, ocasionalmente, onde a coloração dos elementos celulares é pálida ou deficiente, os parasitos podem continuar se destacando clara e distintamente por algum tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCANJO, A. R. L. et al. Estudo comparativo dos testes de gota espessa e optimal na malária humana: XXXVI Congresso da Sociedade de Medicina Tropical, 2000, São Luis - MA. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Manaus: FMTM/FUNEP, v. 33, p. 333-334, 2000.

ÁVILA, S. L. M. et al. Evaluation of different methods for Plasmodia detection, in well defined population groups in an endemic area of Brazil. Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo, v. 36, n. 2, p. 157-167, mar/apr. 1994..

BRASIL. Ministério da Saúde. Doença de Chagas Aguda. Manual Prático de Subsídio à Notificação Obrigatória no Sinan, 2004.

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.399/GM, de 15 de dezembro de 1999. Diário Oficial da União, Brasília, v. 87, nº 240, Seção 1, p. 21, 16 dez. 1999.

_____. Ministério da Saúde. Portaria nº 15, de 3 de janeiro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, 8 jan. 2002.

_____. Relatório técnico/Technical report da Reunião Internacional sobre Vigilância e Prevenção da Doença de Chagas na Amazônia. Implementação da Iniciativa Intergovernamental de Vigilância e Prevenção da doença de Chagas na Amazônia. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 38(1):82-89, jan-fev, 2005.

CALVOSA, V. S. P. et al. Diagnóstico de malária por Plasmodium vivax: gota espessa x teste imunocromatográfico (ICT-malária PF/PV-AMRAD): resumos do XXXVI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Luís, 2000. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, [S.l.], v. 33, 2000. Suplemento 1.

DIAS, J. C. P.; PRATA, A.; SCHOFIELD, C. J. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 35(6):669-678, nov-dez, 2002.

DIETZE, R. et al. The diagnosis on Plasmodium falciparum infection using a man antigen detection system. Am. J. Tropical Med.Hyg., [S.l.], v. 52, p. 45-49, 1995.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2ª ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2001.

FIELD, J. W., SCHUTE, P. G. The microscopic diagnosis of human malaria. Malaya: Institute for Medical Research, 1956. v. 2.

KRETTIL, A. U.; FONTES, C. J. F. Malária humana: situação atual, problemas de diagnóstico e imunidade. *Ciência e Cultura*, [S.l.], v. 42, nº 8, p. 551-574, 1990.

LUZ, F. C. O. Coloração das granulações de Schüffner nas hemácias parasitadas pelo *P. vivax* e *P. ovale*. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 35., 1999, Guarapari. [Anais...]. Guarapari, [s.n.], 1999.

_____. Diagnóstico laboratorial de malária: a gota espessa. In: SIMPÓSIO BRASIL-COLÔMBIA SOBRE MALÁRIA, 1., 1996, Belém. 5ª Reunião de Pesquisadores em Malária. Belém, 1996.

_____. Diagnóstico laboratorial de malária: importância da revisão de diagnóstico. In: SIMPÓSIO DE MALÁRIA, 2., Brasília, 1989. 3ª Reunião Nacional de Pesquisadores em Malária. Brasília, 1989.

LUZ, F. C. O et al. Detecção de casos de malária por *P. ovale* e *P. malariae*, importados da África: XXXV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Guarapari-ES. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, 1999. Suplemento 1.

LUZ, F. C. O.; RAMIREZ, C. T. F. Apostila do curso de diagnóstico laboratorial de malária. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISADORES EM MALÁRIA, 3., Brasília, 1989. Brasília: NMT/UnB, 1989.

NEVES, D. P. Parasitologia dinâmica. [S.l.]: Ateneu, 2003. 474 p.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS); ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Manual del diagnóstico de la malária. [S.l.], 1960. (Publicación Científica, nº 46).

_____. Diagnóstico de malária. [S.l.], 1988. (Publicación Científica, nº 512)

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Manual de diagnóstico microscópico da malária. 2ª ed. [S.l.], 1964. (Publicação Científica, nº 87).

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manual for the microscopic diagnosis of malaria. 3ª ed. [S.l.], 1968. (Cientific Publication, nº161).

PESSÔA, S. B. Parasitologia médica. 5ª. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 1985.

REY, L. Parasitologia. 3ª ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2001. p. 856.

RUSSEL, P. F.; WEST, L. S.; MANWEL, R. D. Malariologia prática. [S.l.: s.n., 1951].

SOUSA, J. M. et al. Gota espessa em malária: causa de erro de diagnóstico específico. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 30., 1993, Fortaleza. Resumos.... Fortaleza, 1993. p. 112.

SPIELMAN, A.; PERRONE, J. B; TEKLEHAIMONT, A. Malaria diagnosis by direct observation of centrifuged samples of blood. Am. J. Trop. Med. Hyg, v. 39, nº 4, p. 337-342, 1988.

UCHÔA, R. et al. Diagnóstico específico de elevada sensibilidade na avaliação de novas drogas antimaláricas. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 31., 1995, São Paulo. Resumos... São Paulo, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Expert comitee on malaria. Amsterdam, 1993.

_____. Global malaria control strategy Ministerial. In: CONFERENCE IN MALÁRIA, 1992, Amsterdam. [Anais...]. Amsterdam, 1992.

_____. Malaria rapid diagnosis: making it work. WHO Meeting Report, 20-23, jan. 2003

_____. World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int.tdr/2003>.

ANEXOS

Anexo 1 Relação de material para laboratório de malária

Colheita de lâminas

- Lâminas de vidro, caixa com 50 unidades
- Microlancetas descartáveis
- Luvas de látex descartáveis
- Algodão hidrófilo, pacote com 500g
- Álcool
- Caixa porta-lâminas
- Etiquetas auto-adesivas
- Formulários
- Tubo para remessa de lâminas
- Lenço de papel absorvente

Limpeza de lâminas novas e usadas

- Álcool comum
- Sabão em pó
- Bacia plástica, capacidade para 5 litros
- Toalhas para enxugar lâminas

Coloração de lâminas

- Pissetas, 250ml ou 500ml
- Placa plástica com bordo para coloração
- Proveta graduada, 25 ml
- Proveta graduada, 50 ml
- Proveta graduada, 100 ml
- Proveta graduada, 500 ml
- Pérolas de vidro
- Giemsa em pó, 24g
- Azul de metileno em pó, 24g

- Fosfato monobásico de potássio, 500g
- Fosfato de sódio bibásico, 500g
- Água destilada
- Glicerol PA
- Álcool metílico PA
- Secador para secagem das lâminas (madeira)
- Frasco escuro, capacidade para 500 ou 1.000ml
- Frasco conta-gotas plástico ou de vidro, 20ml/30ml (para solução de Giemsa)
- Óleo de imersão para microscopia

Obs: 1) Todos os frascos devem estar devidamente identificados;
2) Para o armazenamento de corantes e diluentes, observar os cuidados necessários. Atenção especial deve ser dada no tocante ao uso da solução comercial de Giemsa, pois a mesma nem sempre apresenta a concentração necessária para uma boa coloração.

Anexo 2 Imagens das diferentes espécies de plasmódios em esfregaço e gota espessa

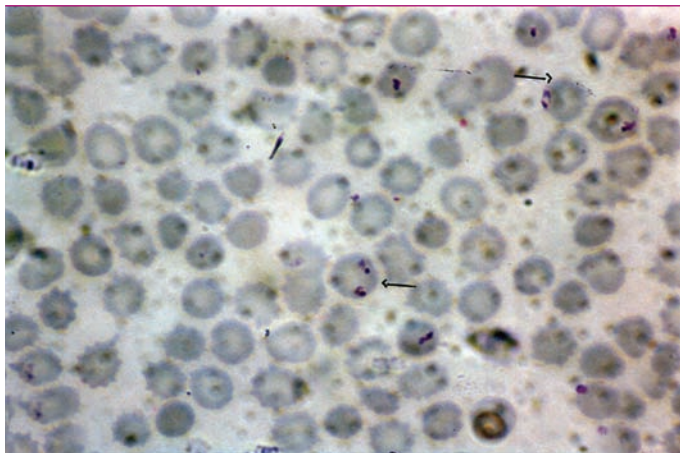


FOTO 3

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA – *P.*
FALCIPARUM
(HEMÁCIAS
NÃO DILATA-
DAS)

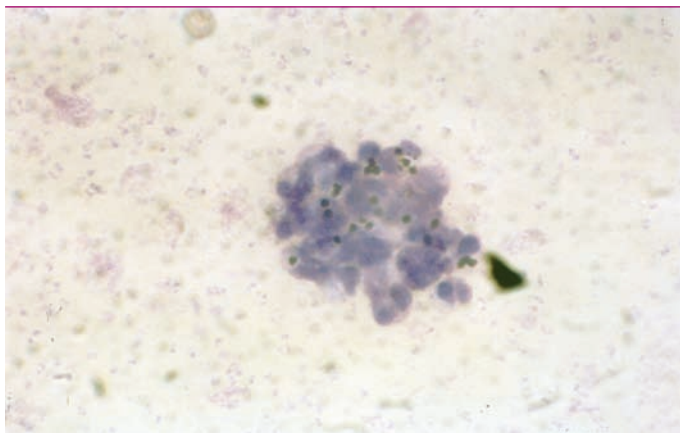


FOTO 4

GOTA ESPESSA
HEMOLISADA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER.
AGLOMERADOS
DE MACRÓ-
FAGOS COM
PIGMENTOS
MALÁRICOS —
ESQUIZONTES
DE *P. FALCI-
PARUM* (SINAL
DE MALÁRIA
GRAVE)

FOTO 5

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER
– TROFOZO-
ÍTOS DE *P.*
FALCIPARUM
E, INDICADO
PELA SETA,
PIGMENTO
MALÁRICO DE
ESQUIZONTES
FAGOCITADOS
(SINAL DE MA-
LÁRIA GRAVE)

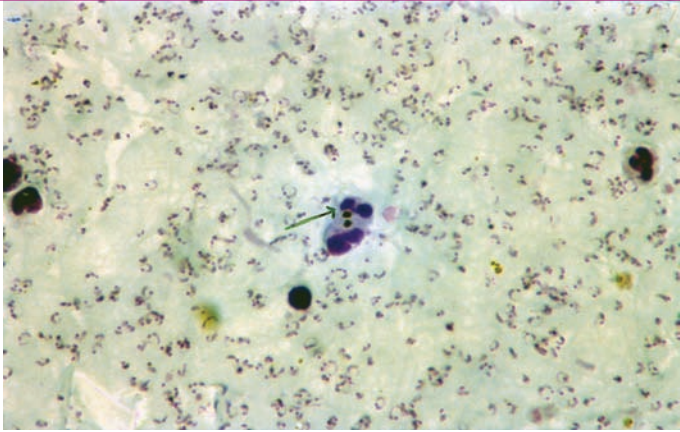
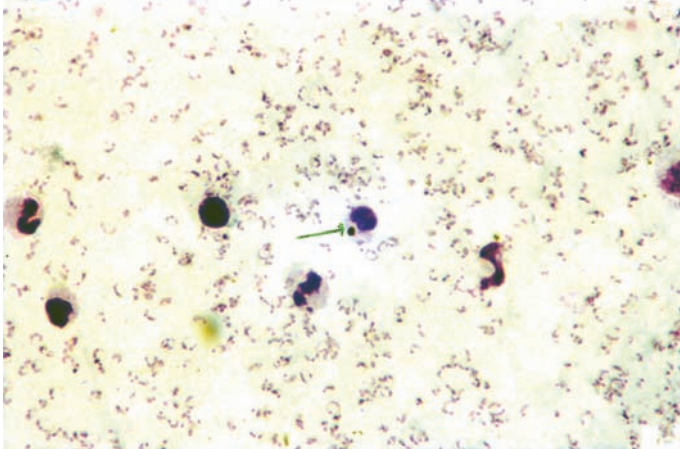


FOTO 6

P.
FALCIPARUM



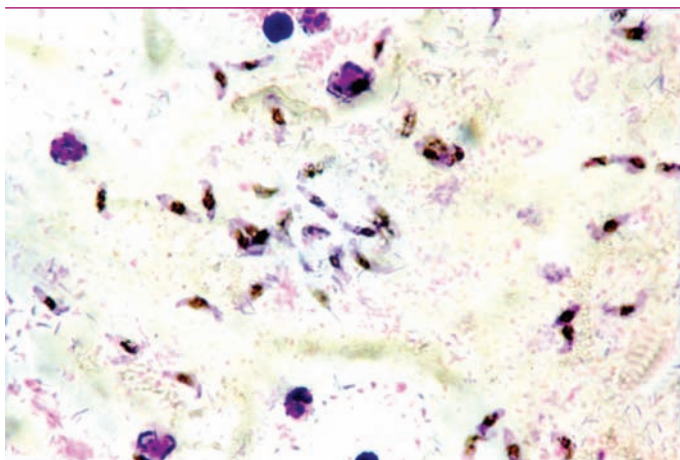


FOTO 7

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER
— ELEVADA
PARASITEMIA
POR *P.*
FALCIPARUM,
APENAS
GAMETÓCITOS
(CONTAMINADA
POR
BACTÉRIAS)

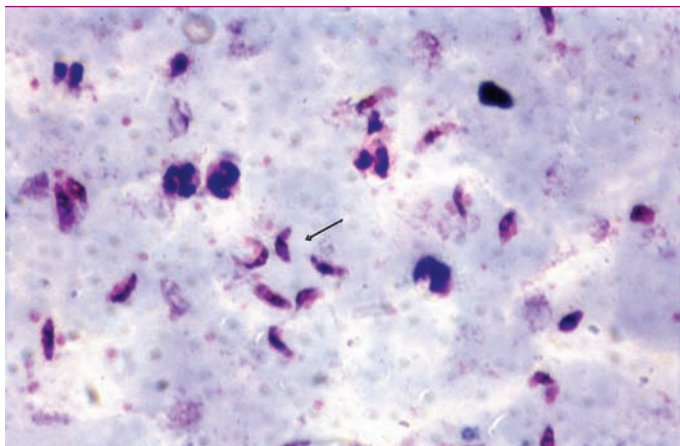


FOTO 8

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER
— ELEVADA PA-
RASITEMIA POR
P.
FALCIPA-
RUM, APENAS
GAMETÓCITOS
(NÃO CONTA-
MINADA POR
BACTÉRIAS)

FOTO 9

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
WALKER COM
ELEVADA PA-
RASITEMIA POR
TROFOZOÍTO
MAIS GAMETÓ-
CITOS DE *P.*
FALCIPARUM

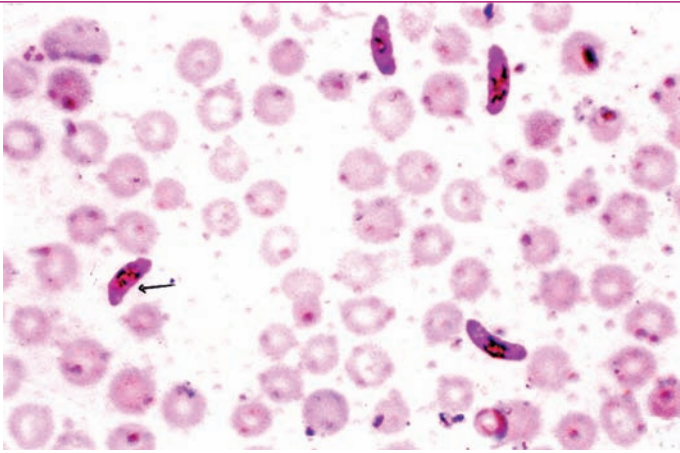
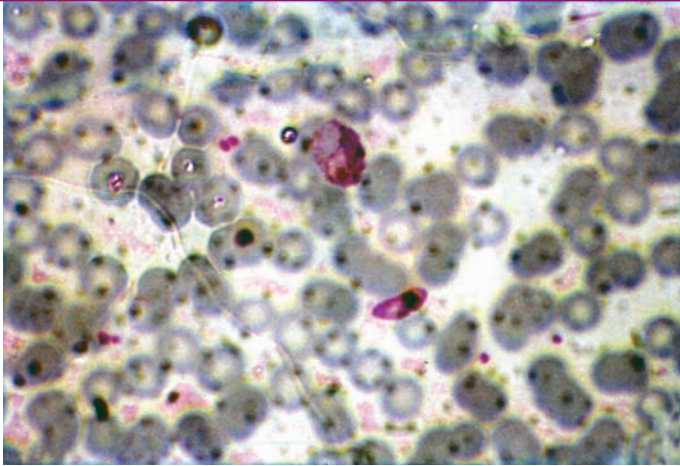


FOTO 10

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA COM
P. VIVAX E
GAMETÓ-
CITO DE *P.*
FALCIPARUM,
INDICAÇÃO
DE INFECÇÃO
MISTA



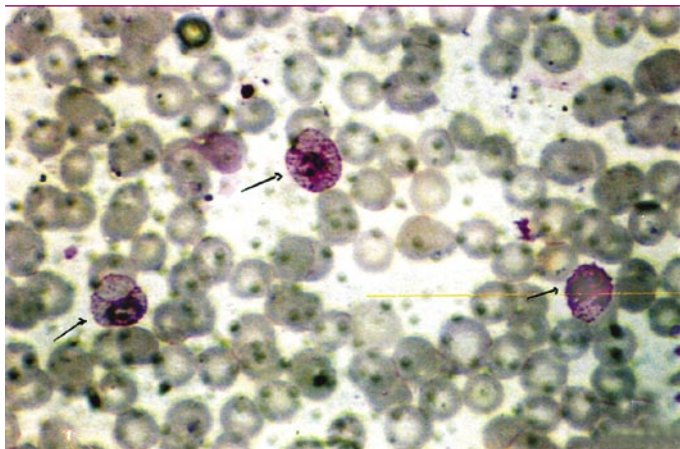


Foto 11

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA COM
P. VIVAX COM
NUMEROSAS
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER
(HEMÁCIAS
DILATADAS)

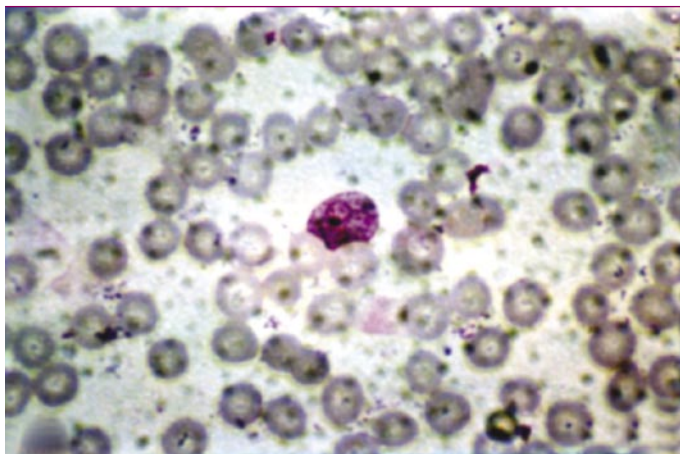


Foto 12

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA COM
P. VIVAX
COM BAIXA
PARASITEMIA.
HEMÁCIA
DILATADA COM
NUMEROSAS
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER

FOTO 13

ESFREGAÇO
FIXADO E
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
FORMAS IRRE-
GULARES DE
P. VIVAX EM
HEMÁCIAS SEM
APARECIMENTO
DAS GRANU-
LAÇÕES DE
SCHÜFFNER

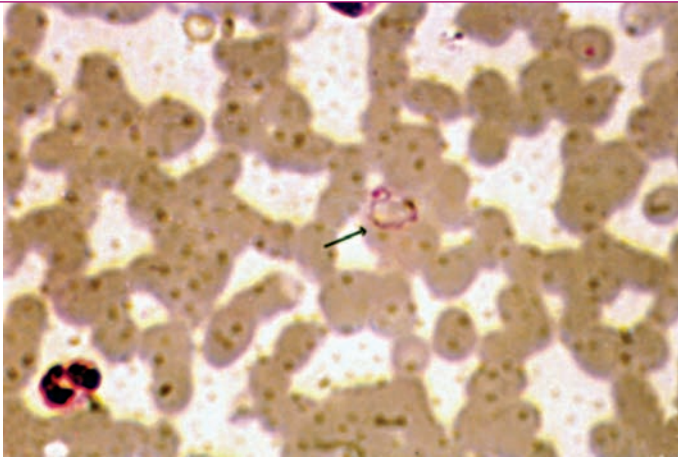
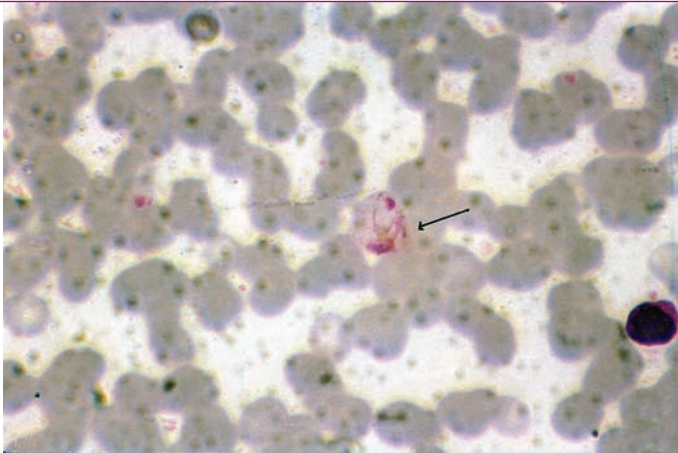


FOTO 14

ESFREGAÇO
FIXADO E
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
FORMAS IRRE-
GULARES DE
P. VIVAX EM
HEMÁCIAS SEM
APARECIMENTO
DAS GRANU-
LAÇÕES DE
SCHÜFFNER



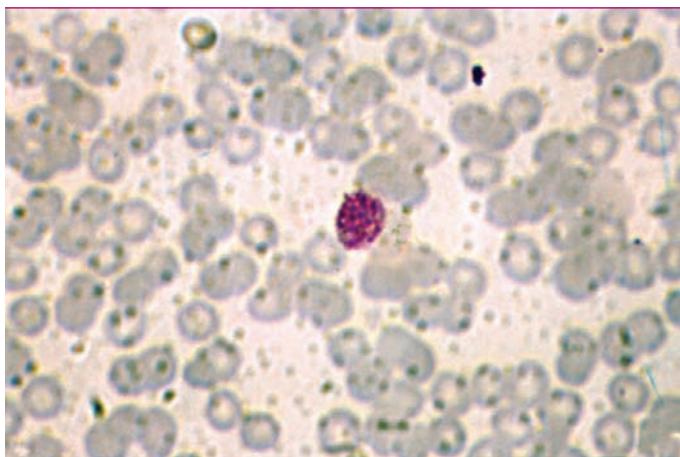


Foto 15

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA COM
P. VIVAX COM
ESQUIZONTE
MADURO

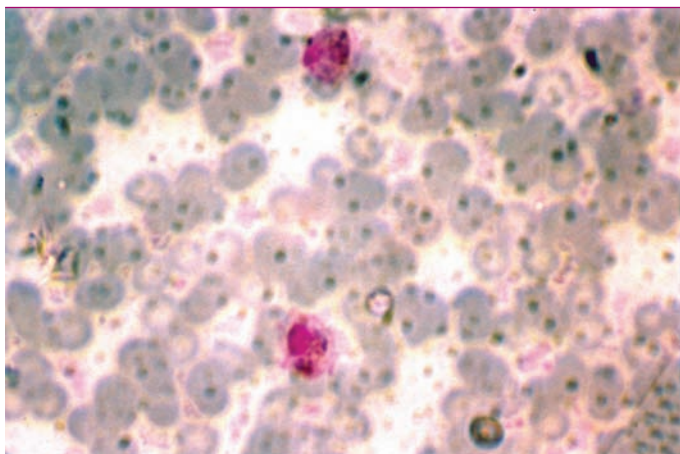


Foto 16

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA COM
P. VIVAX
MONONU-
CLEADO COM
ESQUIZONTE
MADURO

FOTO 17

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER COM
ALTA PARASI-
TEMIA POR *P.*
VIVAX, COM
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER
NAS HEMÁCIAS
PARASITADAS

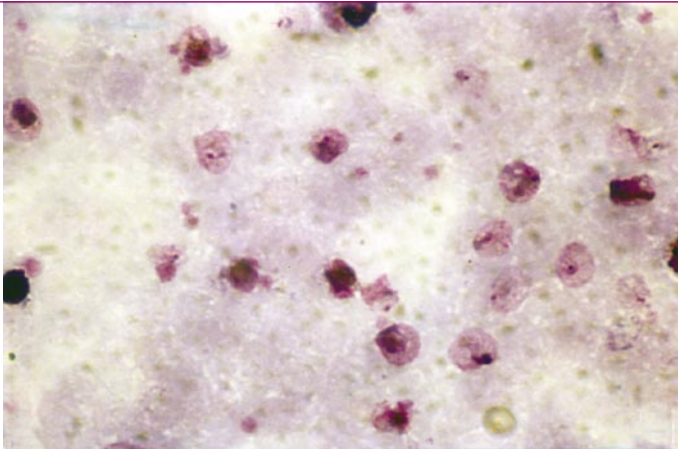
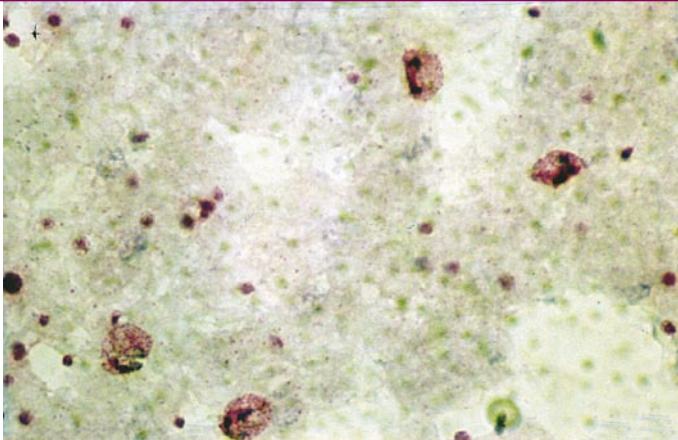


FOTO 18

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
WALKER COM
BAIXA PARASI-
TEMIA POR *P.*
VIVAX, COM
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER
NAS HEMÁCIAS
PARASITADAS



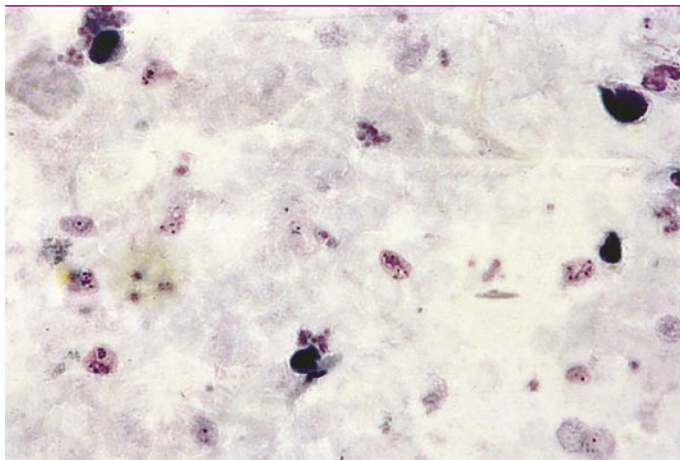


Foto 19

GOTA ESPESA
CORADA PELO
MÉTOD DE
WALKER COM
ELEVADA
PARASITEMIA
POR *P. VIVAX*.
HEMÁCIAS COM
POUCAS GRA-
NULAÇÕES DE
SCHÜFFNER

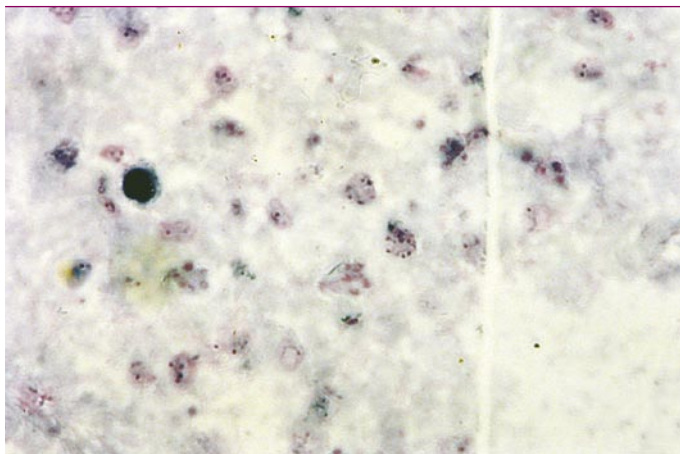


Foto 20

GOTA ESPESA
CORADA PELO
MÉTOD DE
WALKER COM
P. VIVAX SEM
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER
(RESULTANTE
DE POUCO
TEMPO DE
EXPOSIÇÃO AO
CORANTE COM
PH NÃO-AL-
CALINO) COM
PREDOMINÂN-
CIA DE FORMAS
IRREGULARES

FOTO 21

GOTA ESPES-
SADA PELO
MÉTODO DE
WALKER COM
P. VIVAX, SEM
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER.
PREDOMINÂN-
CIA DE FORMAS
IRREGULARES

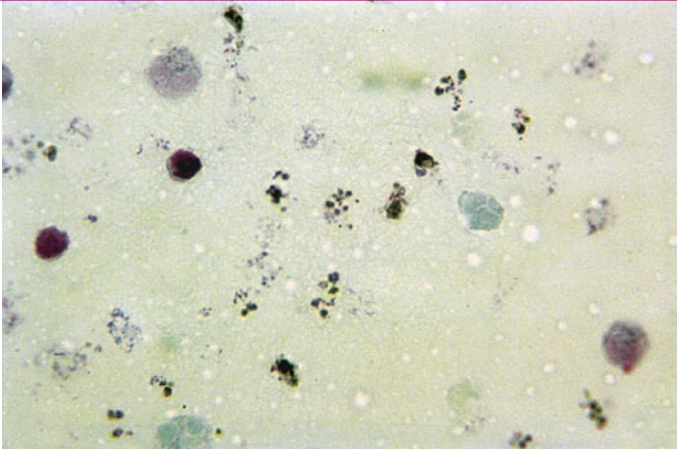
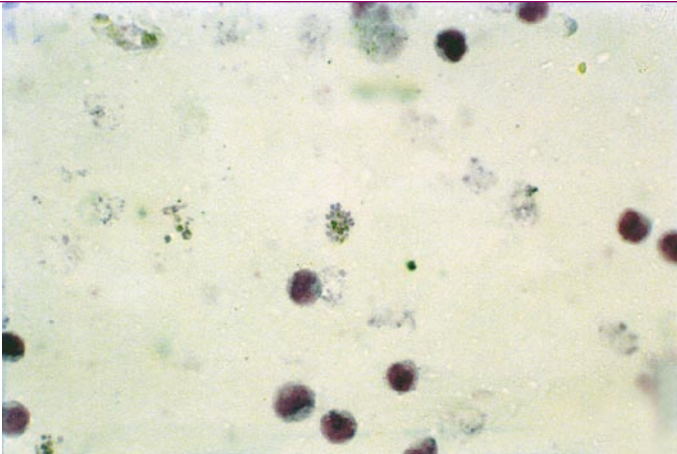


FOTO 22

GOTA ESPES-
SADA PELO
MÉTODO DE
WALKER
COM RAROS
TROFOZOÍTOS
JOVENS DE
P. VIVAX,
SEM GRANU-
LAÇÕES DE
SCHÜFFNER; E
UM ESQUIZON-
TE MADURO
COM MEROZO-
ÍTOS EM VOLTA
DE PEQUE-
NA MASSA
COMPACTA E
ESCURA DE
PIGMENTO
MALÁRICO



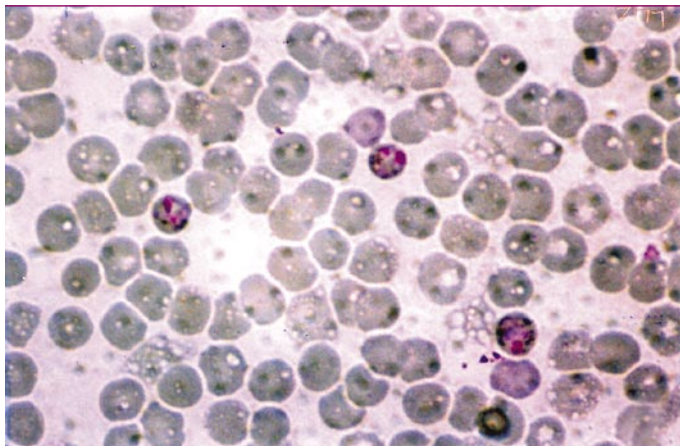


Foto 23

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA – FORMAS
REGULARES DE
P. MALARIAE

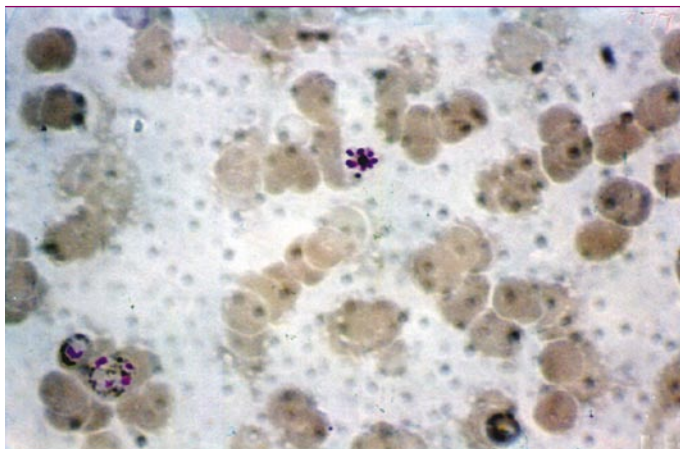


Foto 24

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA – ES-
QUIZONTES DE
P. MALARIAE.
HEMÁCIAS NÃO
DILATADAS E
SEM GRANU-
LAÇÕES DE
SCHÜFFNER

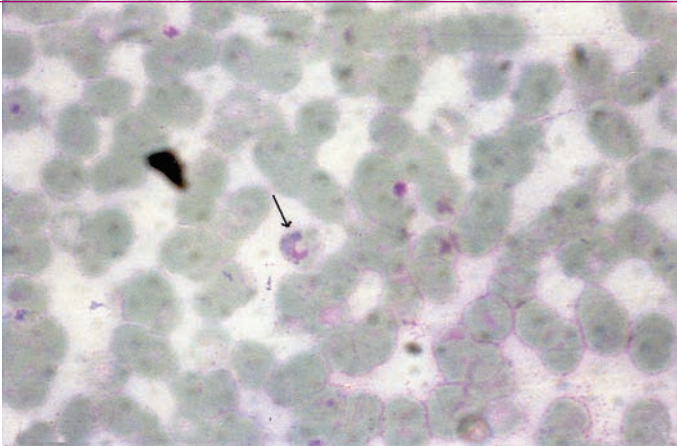
FOTO 25

ESFREGAÇO
FIXADO E
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
P. MALARIAE,
DE BAIXA
PARASITÊMIA
POR FORMAS
REGULARES,
HEMÁCIAS
DESCORADAS,
NÃO DILATADAS
E SEM GRA-
NULAÇÕES DE
SCHÜFFNER



FOTO 26

ESFREGAÇO
FIXADO E
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
P. MALARIAE,
DE BAIXA
PARASITÊMIA
POR FORMAS
REGULARES,
HEMÁCIAS
DESCORADAS,
NÃO DILATADAS
E SEM GRA-
NULAÇÕES DE
SCHÜFFNER



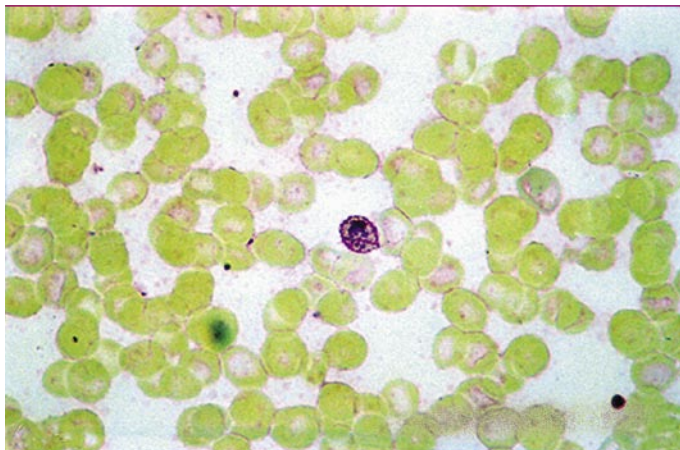


Foto 27

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
P. OVALE.
HEMÁCIA COM
NUMEROSAS
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER

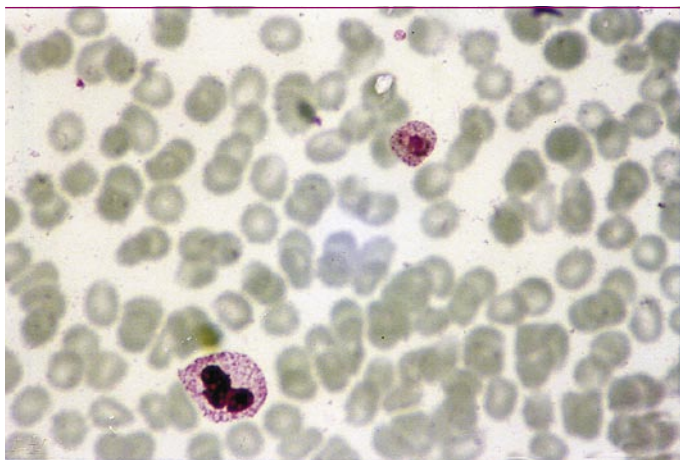


Foto 28

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
P. OVALE.
HEMÁCIA COM
NUMEROSAS
GRANULAÇÕES
DE SCHÜFFNER

FOTO 29

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
BAIXA PARASI-
TEMIA POR
P. OVALE

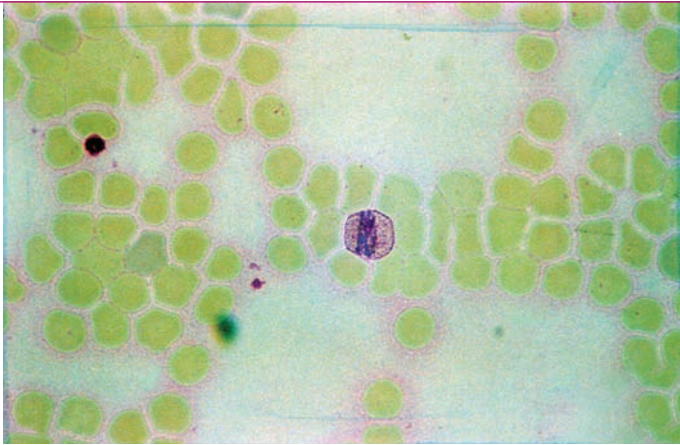
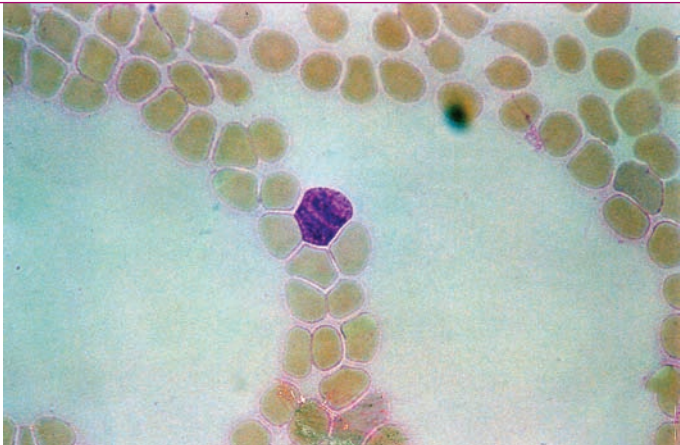


FOTO 30

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA, COM
BAIXA PARASI-
TEMIA POR
P. OVALE



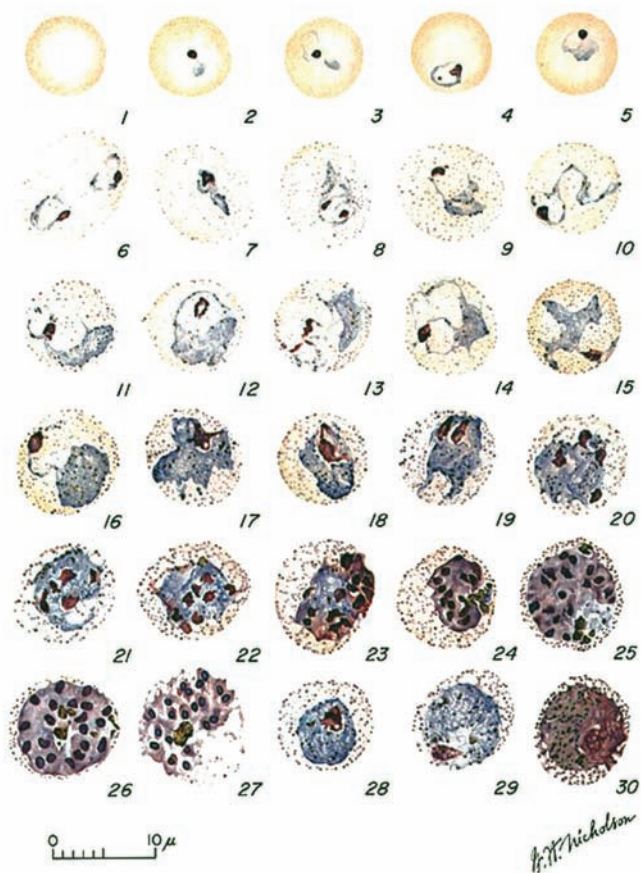
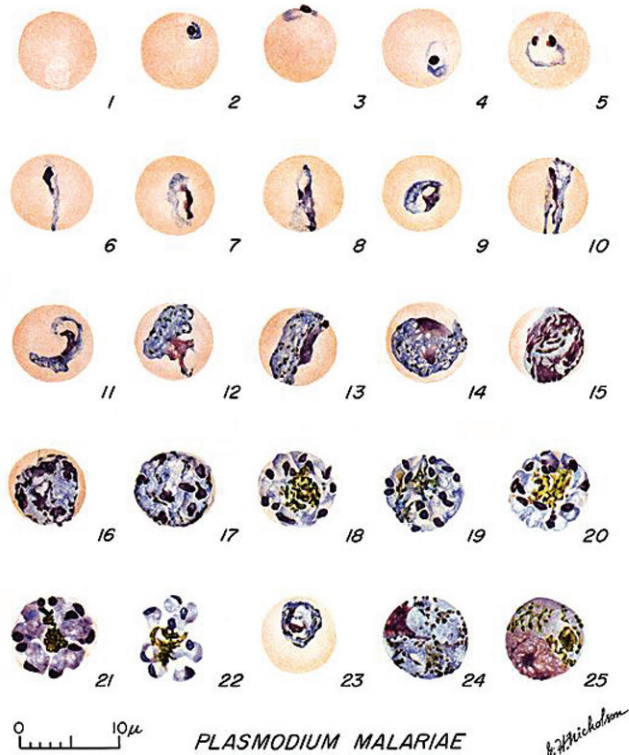


FIGURA 6
PLASMODIUM
VIVAX

FONTE: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

FIGURA 7

**PLASMODIUM
MALARIAE**



FONTE: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

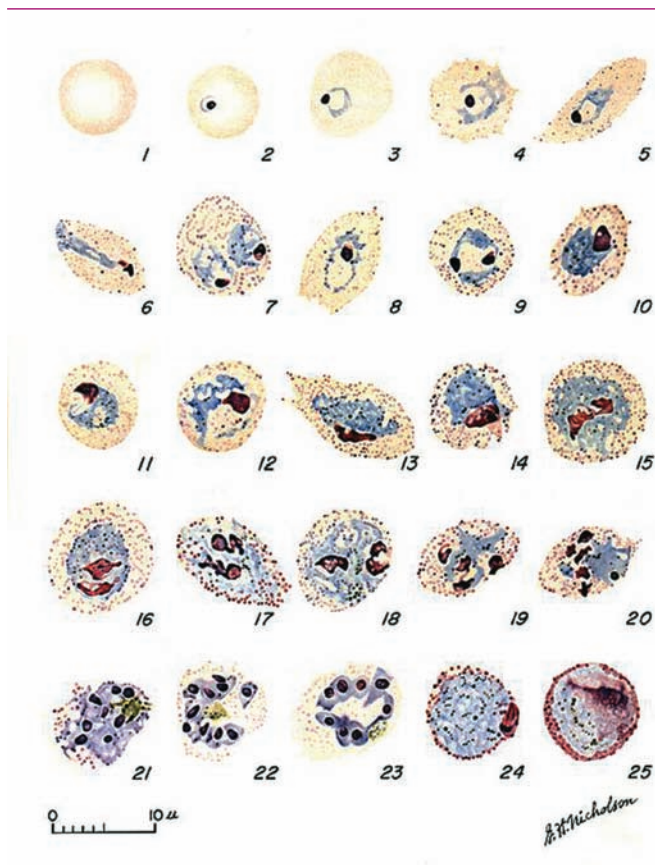


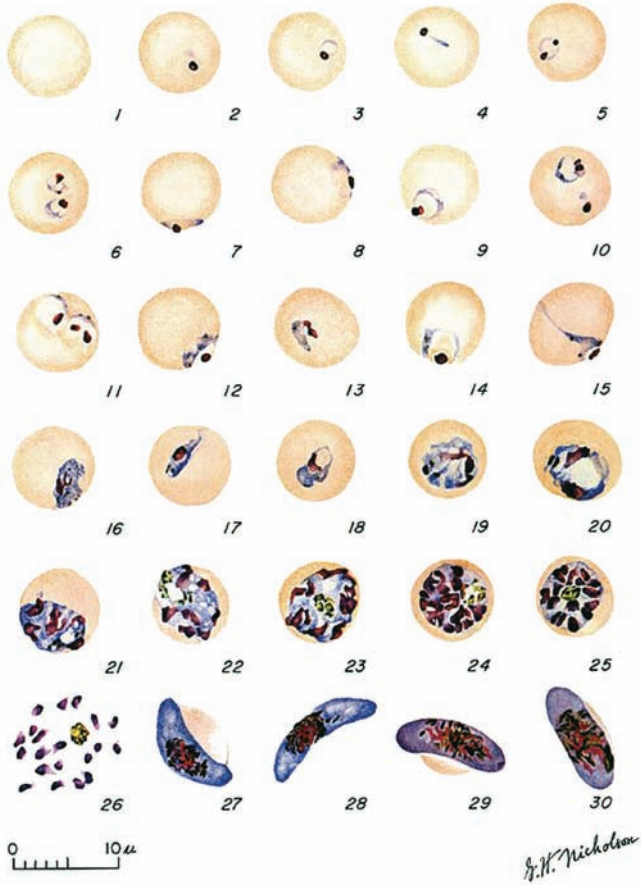
FIGURA 8

PLASMODIUM
OVALE

FONTE: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

FIGURA 9

PLASMODIUM FALCIPARUM



FONTE: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

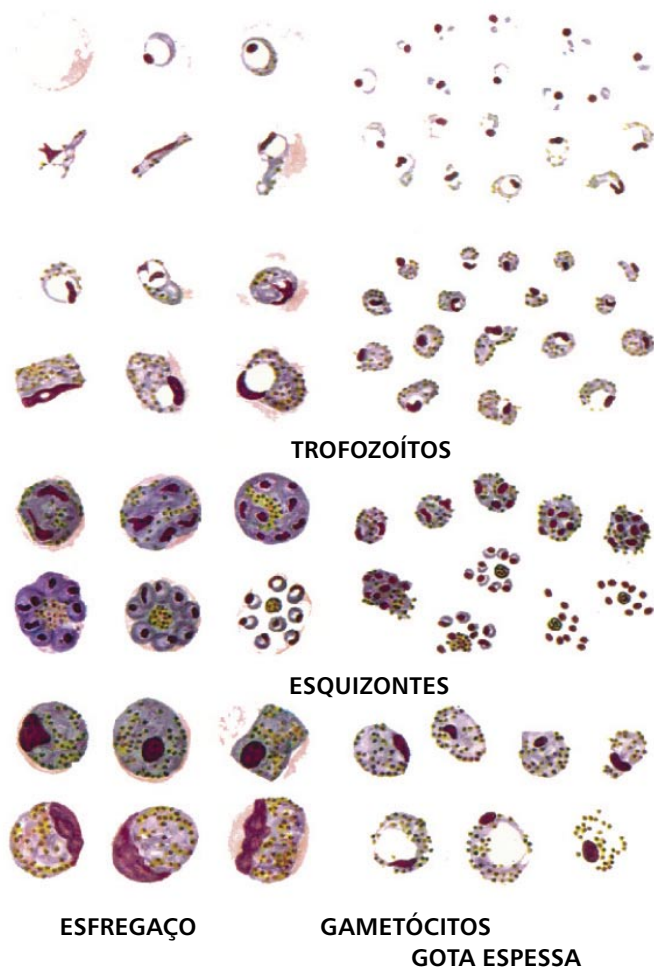


FIGURA 10
ESTÁGIOS DAS
DIFERENTES
ESPÉCIES DE
PLASMÓDIOS
ENCONTRADOS
NO INTERIOR
DAS HE-
MÁCIAS DO
PLASMODIUM
MALARIAE

FONTE: "DPDX: CDC'S WEB SITE FOR PARASITOLOGY IDENTIFICATION"

FIGURA 11

ELEMENTOS QUE PODEM CONFUNDIR O DIAGNÓSTICO DE MALÁRIA



FONTE: "DPDx: CDC's Web site for parasitology identification"

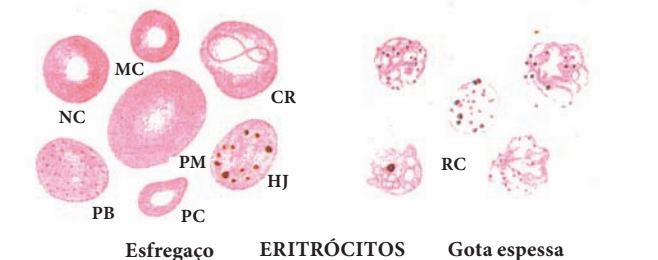
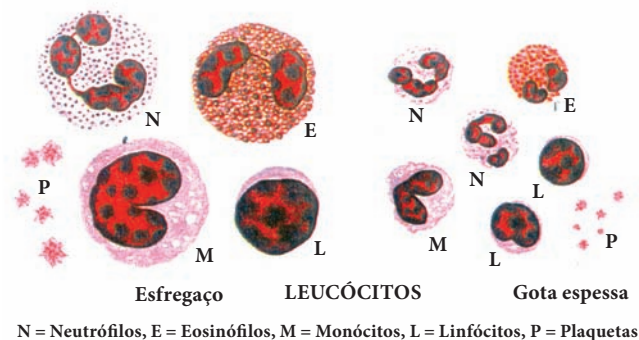


FIGURA 12

ELEMENTOS DO SANGUE EM ESFREGAÇO E GOTA ESPESSA. EFEITO DO pH SOBRE A COLORAÇÃO

FONTE: “DPDX: CDC’s Web site for parasitology identification”

Anexo 3 Doença de Chagas Aguda

A Doença de Chagas Aguda (DCA), fase que ocorre no período inicial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* no homem e em vários mamíferos, pode apresentar-se aparente ou inaparente. Uma das principais características dessa fase é a elevada parasitemia detectável por exames parasitológicos diretos do sangue, embora a detecção do parasito nessa fase seja de curta duração no ser humano (entre três e oito semanas). Esta fase aguda pode ser letal em crianças de baixa idade e indivíduos imuno-comprometidos ou evoluir para a fase crônica, o que ocorre em quase todos os casos. Esta última é de longa duração, por toda a vida e se caracteriza por baixa parasitemia, com aumento de anticorpos da classe IgG. Quando tratada oportunamente, a DCA pode ser curada, o que ocorre em 60 a 70% dos casos. Por essa razão, há grande interesse e importância na detecção e notificação da DCA, não somente pela possibilidade de tratamento, mas também para propiciar ao Sistema de Saúde a oportunidade de realizar parte importante da vigilância da Doença de Chagas. Cada caso novo da doença pressupõe transmissão ativa e, segundo diversas investigações, pode significar a possibilidade de outros casos agudos da infecção estarem ocorrendo no mesmo período e lugar, em circunstâncias semelhantes, o que pode ser detectado e contornado mediante ações objetivas de vigilância epidemiológica.

O diagnóstico de certeza da DCA é o encontro do parasito em sangue circulante, através de exames parasitológicos diretos. A técnica mais simples é a da microscopia direta sobre gota fresca de sangue, examinada entre lâmina e lamínula, com ocular 10 e objetiva 40. Entretanto, também pode ser usada a técnica de gota espessa corada, como empregada para diagnóstico da malária, embora menos sensível que o exame a fresco. Frequentemente o diagnóstico de DCA tem sido feito em forma ocasional, pelo achado do parasito em esfregaços corados para contagem diferencial de leucócitos, em hemogramas de pacientes febris. Dessa forma, os laboratoristas (de malária e patologia clínica) têm um papel fundamental na vigilância da DCA, devendo ser capacitados e motivados. Devem também ser reforçados os sistemas locais e regionais de informação e investigação epidemiológica de casos, bem como esquemas sentinelas sobre casos febris e sistemas municipais de controle e vigilância sobre dengue, hoje amplamente dispersos na Amazônia.

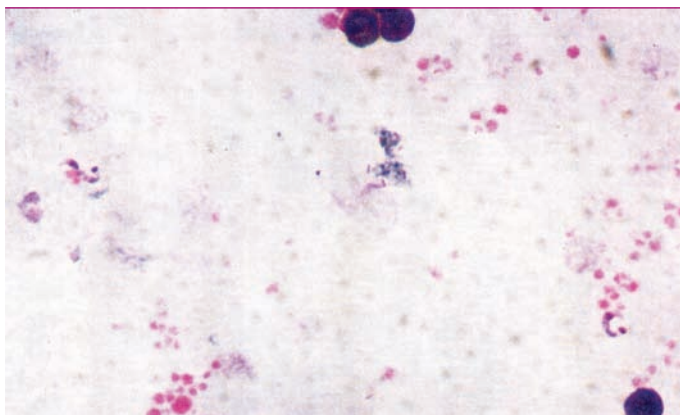


Foto 31

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

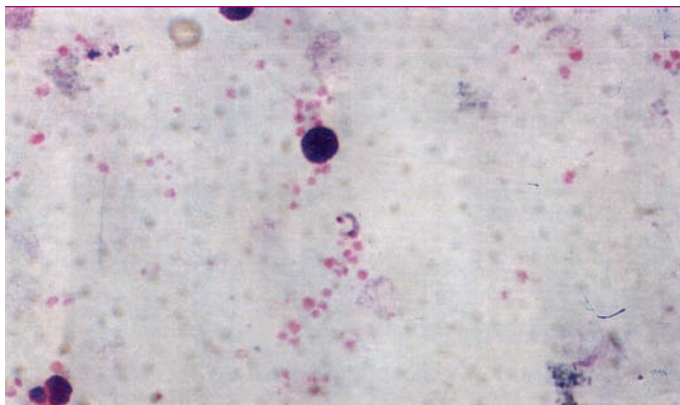


Foto 32

GOTA ESPESSA
CORADA PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

FOTO 33

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

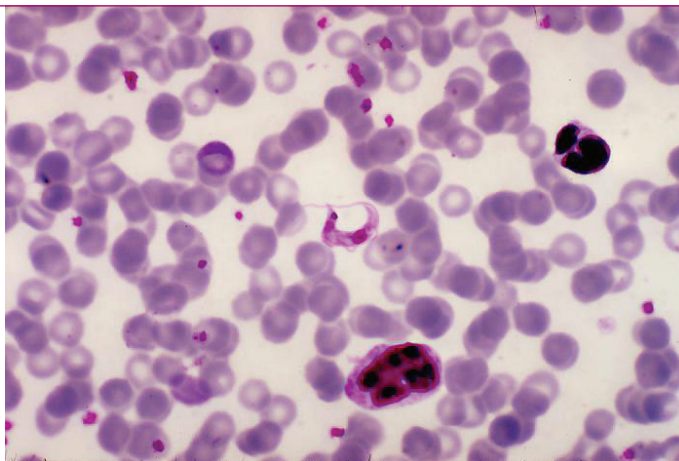


FOTO 34

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

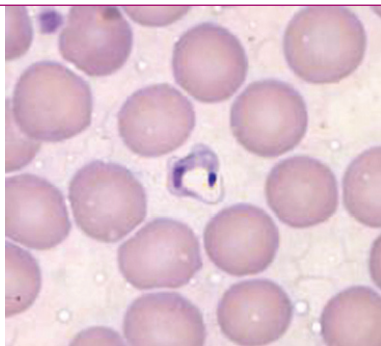




FOTO 35

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI (A SETA
ESTÁ INDICAN-
DO O NÚCLEO
DO PARASITO).



FOTO 36

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

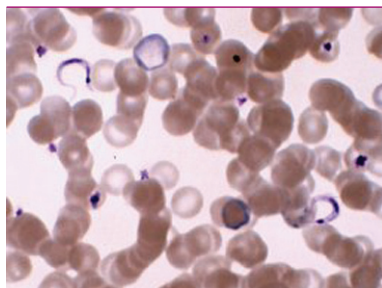


FOTO 37

ESFREGAÇO
CORADO PELO
MÉTODO DE
GIEMSA,
APRESENTANDO
FORMA TRIPO-
MASTIGOTA DO
TRYPANOSOMA
CRUZI.

Anexo 4 Normas de organização e funcionamento do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública – Sislab

A Portaria 1.172, de 15 de junho de 2004, do Ministério da Saúde (MS), que substitui a portaria nº 1.399/99, regulamenta a NOB SUS 1/96 no que se refere às competências da União, estados, municípios e Distrito Federal na área de vigilância em saúde, define a sistemática de financiamento e dá outras providências.

A Portaria MS 2.031, de 23 de setembro de 2004, dispõe sobre a organização do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública - Sislab.

O Sislab é um conjunto de redes nacionais de laboratórios, organizadas em sub-redes, por agravos ou programas, de forma hierarquizada por grau de complexidade das atividades relacionadas à vigilância epidemiológica, vigilância ambiental em saúde, vigilância sanitária e assistência médica. É, portanto, constituído pelas seguintes redes nacionais de laboratórios:

- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica
- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Ambiental em Saúde
- Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Sanitária
- Rede Nacional de Laboratórios de Assistência Médica de Alta Complexidade

As sub-redes são estruturadas de forma hierarquizada de acordo com a seguinte classificação de unidades laboratoriais:

- Centros colaboradores – CC
- Laboratórios de referência nacional – LRN
- Laboratórios de referência regional – LRR
- Laboratórios de referência estadual – LRE
- Laboratório de referência municipal – LRM
- Laboratórios locais – LL
- Laboratórios de fronteira – LF

Em um país continental como o Brasil, esta estruturação é fundamental para que as ações e os serviços laboratoriais executados pelos laboratórios de saúde pública sejam abrangentes, organizados, racionais e em consonância com os princípios do SUS.

As competências dessas unidades laboratoriais estão estabelecidas na Portaria 2.031, anteriormente citada.

Os laboratórios de referência nacional são unidades laboratoriais de excelência técnica, altamente especializada.

Os laboratórios de referência regional são unidades laboratoriais capacitadas para desenvolver atividades mais complexas, organizadas por agravos ou programas, que prestam apoio técnico-operacional àquelas unidades definidas para sua área geográfica de abrangência.

Estas duas unidades laboratoriais são oficialmente definidas pelo MS.

Os laboratórios de referência estadual são os Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen, vinculados às secretarias estaduais de saúde, com área geográfica de abrangência estadual.

Os laboratórios de referência municipal são unidades laboratoriais vinculadas às secretarias municipais de saúde, com área geográfica de abrangência estadual.

Os laboratórios locais são unidades laboratoriais que integram a rede estadual ou municipal de laboratórios de saúde pública.

Os laboratórios de fronteira são unidades laboratoriais localizadas em regiões de fronteira.

No capítulo III da Portaria 2.031 é definida a gestão do Sistema. As Redes Nacionais de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica e Ambiental em Saúde têm como gestor nacional a Secretaria de Vigilância em Saúde, do MS.

Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública – CGLAB

A Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública, vinculada à Secretaria de Vigilância em Saúde, é responsável pela coordenação, normatização e supervisão das atividades técnicas das Redes Nacionais de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica e Ambiental em Saúde. Tem como meta promover, coordenar, apoiar e fomentar ações objetivando a melhoria contínua dos serviços prestados por essas redes. Neste sentido, a elaboração de manuais técnicos com a definição das metodologias, procedimentos e orientações a serem seguidos pelos laboratórios é de grande importância para a confiabilidade e qualidade dos resultados e trabalhos gerados pelos laboratórios, já que os mesmos têm implicações clínico-terapêuticas e epidemiológicas para o paciente e a sociedade.

Anexo 5 Relação dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacen

Amazônia legal

ACRE

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Djalma da Cunha Batista
Endereço: Av. Getúlio Vargas - Travessa do Hemoacre, s/nº
CEP 69.900-614 / Rio Branco/AC
Telefone: (68) 228 2720
Fax: (68) 228 2720
E-mail: lacen.saude@ac.gov.br

AMAZONAS

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Rua Emílio Moreira, 510 - Centro
CEP 69.020-040 / Manaus/AM
Telefone: (92) 622 2819
Fax: (92) 233 0595
E-mail: lacenam@bol.com.br

AMAPÁ

Instituição: Laboratório de Saúde Pública Prof. Reinaldo Damasceno
Endereço: Rua Tancredo Neves, 1.118 – São Lázaro
CEP 68.900-010 / Macapá/AP
Telefones: (96) 212 6175 / 6165 / 6115
Fax: (96) 212 6115
E-mail: elza@lacen.ap.gov.br

MARANHÃO

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Instituto Oswaldo Cruz
Endereço: Rua Afonso Pena, 198 - Centro
CEP 65.010-030 / São Luís/MA
Telefone: (98) 3243 6215
Fax: (98) 243 3521
E-mail: lacen@lacen.ma.gov.br

MATO GROSSO

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Rua Thogo da Silva Pereira, 63 - Centro
CEP 78.020-500 / Cuiabá/MT
Telefones: (65) 623 6404 / 624 6095
Fax: (65) 613 2697
E-mail: dirlacen@saude.mt.gov.br

PARÁ

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Rodovia Augusto Montenegro, Km 10
CEP 66.823-060 / Belém/PA
Telefones: (91) 248 8299 / 1766
Fax: (91) 248 1766
E-mail: lacen@sessa.pa.gov.br

RONDÔNIA

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Rua Anita Garibaldi, 4.130 - Costa e Silva
CEP 78.903-770 / Porto Velho/RO
Telefones: (69) 216-5305 / 5300 / 5301 / 5302
Fax: (69) 216 6149 / 6106 / 223 4890 / 229 6566
E-mail: direcao@lacen.ro.gov.br

RORAIMA

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Av. Brigadeiro Eduardo Gomes, s/nº – Novo Planalto
CEP 69.305-650 / Boa Vista/RR
Telefones: (95) 623 1996 / 1982 / 1221
Fax: (95) 623 1976 / 1294 (secretaria de saúde)
E-mail: lacen_rr@zipmail.com.br

TOCANTINS

Instituição: Laboratório Central de Referência em Saúde Pública
Endereço: 601 Sul, Av. LO 15, Conjunto 2 - Lote 1 - Planalto Diretor Sul
CEP 77.054-970 / Palmas/TO
Telefones: (63) 218.3237 / 3239 / 3223
Fax: (63) 218.3220/ 3228
E-mail: lacen@saude.to.gov.br

Região extra-amazônica

ALAGOAS

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Aristeu Lopes

Endereço: Av. Marechal Castelo Branco, 1.773 - Jatiúca

CEP 57.036-340 / Maceió/AL

Telefones: (82) 315 2702 / 2701

Fax: (82) 315 2722

E-mail: telma@lacen.com.br

BAHIA

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz

Endereço: Rua Waldemar Falcão, 123 - Brotas

CEP 40.295-001 / Salvador/BA

Telefones: (71) 356 1414 / 2299

Fax: (71) 356 0139

E-mail: lacen.diretoria@saude.ba.gov.br

CEARÁ

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública

Endereço: Av. Barão de Studart, 2.405 - Aldeota

CEP 60.120-002 / Fortaleza/CE

Telefone: (85) 433 9130

Fax: (85) 433 9144

E-mail: liana@saude.ce.gov.br

DISTRITO FEDERAL

Instituição: Instituto de Saúde do Distrito Federal

Endereço: SGAN - Quadra 601, Lotes O e P

CEP 70.830-010 / Brasília/DF

Telefone: (61) 316 9808 (Centro de Controle de Zoonoses)

Fax: (61) 321 9995

E-mail: gablacen@saude.df.gov.br

ESPÍRITO SANTO

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública

Endereço: Av. Marechal Mascarenhas de Moraes, 2.025 - Bento Ferreira

CEP 29.052-121 / Vitória/ES

Telefone: (27) 3382 5046

Fax: (27) 3137 2404

E-mail: lacen@saude.es.gov.br

GOIÁS

Instituição: Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros
Endereço: Av. Contorno, 3.556 - Jardim Bela Vista
CEP 74.853-120 / Goiânia/GO
Telefone: (62) 282 7282
Fax: (62) 249.6116 / 282 7340
E-mail: lacen@lacen.go.gov.br

MATO GROSSO DO SUL

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Av. Senador Felinto Müller, 1.666 - Ipiranga
CEP 79.074-460 / Campo Grande/MS
Telefones: (67) 345 1300 / 346 4871
Fax: (67) 345 1320
E-mail: lacendiretoria@net.ms.gov.br

MINAS GERAIS

Instituição: Instituto Octávio Magalhães/Fundação Ezequiel Dias
Endereço: Rua Conde Pereira Carneiro, 80 - Gameleira
CEP 30.510-010 / Belo Horizonte/MG
Telefones: (31) 3371 9472 / 9461 / 9478
Fax: (31) 3371 9480 / 9478 / 9444
E-mail: iomlacen@funed.mg.gov.br

PARAÍBA

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Av. Cruz das Armas, s/nº - Cruz das Armas
CEP 58.085-000 / João Pessoa/PB
Telefones: (83) 218 5926 / 5922
Fax: (83) 218.5923
E-mail: lacenpb@ig.com.br

PARANÁ

Instituição: Laboratório Central do Estado
Endereço: Rua Ubaldino do Amaral, 545 - Centro
CEP 80.060-190 / Curitiba/PR
Telefone: (41) 264 4111
Fax: (41) 264 4448
E-mail: benatto@pr.gov.br

PERNAMBUCO

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral
 Laboratório de Endemias – Labend
 Endereço: Av. Conde da Boa Vista, 1.570 - Boa Vista
 CEP 50.060-001 / Recife/PE
 Telefone: (81) 3423 4845
 Fax: (81) 3412 6333
 E-mail: lacen@saude.pe.gov.br

PIAUÍ

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Costa Alvarenga
 Endereço: Rua Dezenove de Novembro, 1.945 - Primavera
 CEP 64.002-570 / Teresina/PI
 Telefones: (86) 223 2484 / 221 3551 / 222 3424
 Fax: (86) 216 3651
 E-mail: lacenpi@veloxmail.com.br

RIO GRANDE DO NORTE

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
 Endereço: Rua Cônego Monte, s/nº - Quintas
 CEP 59.037-170 / Natal/RN
 Telefone: (84) 232 6191
 Fax: (84) 232 6195
 E-mail: lacenrn@ig.com.br

RIO DE JANEIRO

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels
 Endereço: Rua do Resende, 118 - Fátima
 CEP 20.231-092 / Rio de Janeiro/RJ
 Telefone: (21) 2252 4000
 Tel/Fax: (21) 2232 5767 / 2232 2470
 E-mail: dptnnutels@saude.rj.gov.br

SÃO PAULO

Instituição: Instituto Adolfo Lutz
 Endereço: Av. Dr. Arnaldo, 355 - Cerqueira César
 CEP 01.246-902 / São Paulo/SP
 Telefones: (11) 3068 2800 / 2802
 Fax: (11) 3085 3505 / 3088 3041
 E-mail: sannazzarro@ial.sp.gov.br

SANTA CATARINA

Instituição: Laboratório Central de Saúde Pública
Endereço: Av. Rio Branco, 152 - Fundos - Centro
CEP 88.015-201 / Florianópolis/SC
Telefones: (48) 251 7801 / 7800 / 7813 / 7817 / 7802
Fax: (48) 251 7900
E-mail: lacon@saude.sc.gov.br

SERGIPE

Instituição: Instituto Parreiras Horta
Endereço: Rua Campo do Brito, 551 - São José
CEP 49.020-380 / Aracaju/SE
Telefones: (79) 211 1050 / 1051 / 214 0221
Fax: (79) 214 1863
E-mail: iphpres@prodase.com.br

RIO GRANDE DO SUL

Instituição: Laboratório Central do Estado
Endereço: Av. Ipiranga 5.400 - Jardim Botânico
CEP 90.610-000 / Porto Alegre/RS
Telefone: (51) 3288 4035 / 3352 0416 / 3352
Fax: (51) 3288 4000 / 4035 / 3352 2107
E-mail: lacon@fepps.rs.gov.br

Equipe de elaboração

Conteúdo

Francisco das Chagas Oliveira Luz (texto-base) – SVS/MS

Jandhuy Pereira dos Santos – CGLAB/SVS/MS

Maria Adelaide Millington – CGLAB/SVS/MS

Maria Alice Fernandes Cadilhe – CGLAB/SVS/MS

Revisão técnica

Cor Jésus Fernandes Fontes – UFMT/Comitê Assessor do PNCM

Geane Maria de Oliveira – CGLAB/SVS/MS

José Lázaro de Brito Ladislau – CGPNCM/SVS/MS

José Maria de Souza – IEC/SVS/MS/Comitê Assessor do PNCM

Maria Cândida de Souza Dantas – CGLAB/SVS/MS

Maria Clara de Carvalho Miranda – CGLAB/SVS/MS

Produção editorial

Francisco das Chagas Oliveira Luz – Fotos 1 a 32

Foto 34 <www.wadsworth.org/parasitology/Images/tn_T.cruzi05-E1.jpg>

Foto 35 <www.msu.edu/course/zol/316/tcruscope.htm>

Foto 36 – WHO/TDR

Foto 37 <www.msu.edu/course/zol/316/tcruscope.htm>

Fabiano Camilo – Projeto gráfico

Sabrina Lopes / Fred Lobo – Diagramação

Napoleão Marcos de Aquino – Copidescagem e revisão

Sabrina Lopes – Capa

disque saúde:
0800 61 1997

www.saude.gov.br/svs

Secretaria de
Vigilância em Saúde

Ministério
da Saúde

