

Caso clínico: doente do sexo feminino de 28 anos com febre e trombocitopénia

Case report: 28 year-old female with fever and thrombocytopenia

Carlos Lemos

Médico Interno de Patologia Clínica, CHLN, Lisboa, Portugal
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa
carlos_mlemos@hotmail.com

Cristina Vaz Carneiro

Assistente Hospitalar Graduada
Serviço de Patologia Clínica, CHLN, Lisboa, Portugal

Ana Miranda

Assistente Hospitalar Graduada
Serviço de Patologia Clínica, CHLN, Lisboa, Portugal

Resumo

INTRODUÇÃO: A malária integra as hipóteses de diagnóstico diferencial em doentes com febre, provenientes de regiões endémicas. Os contadores hematológicos atuais não foram especificamente desenhados para identificar alterações associadas a malária. Assim, a observação do esfregaço de sangue periférico (ESP) permanece imprescindível.

DESCRIÇÃO DO CASO: Uma mulher de 28 anos, residente em Angola, recorreu a assistência médica, devido a febre, mialgias, tosse, cefaleias e diarreia. O hemograma revelou trombocitopénia ($130.000 \times 10^6/L$). A pesquisa de *Plasmodium* em ESP e de anticorpos anti-dengue foram, respetivamente, negativas. Dois dias depois, a doente viajou para Portugal, onde se dirigiu a um serviço de urgência (SU). Analiticamente, observou-se agravamento da trombocitopénia ($47.000 \times 10^6/L$), elevação das transaminases (ALT 124 UI/L, AST 97 UI/L) e uma proteína C-reativa (PCR) de 2,66 g/dL. A pesquisa de *Plasmodium* e de anti-corpos anti-dengue foi negativa. O hemograma foi repetido 3 dias depois, revelando 8% de *large unstained cells* (LUC). Após observação de ESP para contagem leucocitária diferencial, foram identificadas algumas formas de *Plasmodium malariae*.

CONCLUSÕES: Embora o ESP se revele imprescindível para o diagnóstico de malária, parasitémias baixas podem inicialmente ser indetectáveis. Assim, a pesquisa de *Plasmodium* deverá ser repetida a cada 12-24 horas, até perfazer 3 conjuntos de lâminas observadas.

Palavras Chave:

Malária, *Plasmodium malariae*, hemograma.

Abstract

BACKGROUND: Malaria needs to be considered during examination of febrile patients who traveled from endemic regions. Current blood cell analyzers are not specifically designed to detect malaria-related abnormalities. Therefore, observation of peripheral blood smear (PBS) is still necessary for malaria diagnosis.

CASE PRESENTATION: A 28 year-old female living in Angola attended to a medical appointment with fever, myalgia, cough, headaches, and diarrhoea. Complete blood count (CBC) has revealed thrombocytopenia ($130.000 \times 10^6/L$). Search for *Plasmodium spp* in PBS was negative and anti-dengue antibodies also negative. Two days later she traveled to Portugal, where she attended the emergency department. Platelet count has lowered ($47.000 \times 10^6/L$), there was elevation of transaminases (ALT 124 UI/L, AST 97 UI/L) and C-reactive protein value was 2,66 g/dL. Search for *Plasmodium spp* and anti-dengue antibodies were again both negative. CBC was repeated 3 days later, which revealed 8% *large unstained cells* (LUC). A PBS was prepared and some forms of *Plasmodium malariae* were observed.

CONCLUSIONS: Misdiagnosis of imported malaria is not uncommon. Although PBS remains necessary for malaria diagnosis, low parasite densities may initially be undetectable in PBS. Therefore, in patients with suspected malaria suspected, PBS should be repeated every 12-24 hours, for a total of 3 sets.

Key Words:

Malaria, *Plasmodium malariae*, blood cell count.

Introdução

A malária é uma doença parasitária que afeta mais de 3.000 milhões de pessoas mundialmente, sendo responsável por mais de 600 mil mortes por ano [1]. A Organização Mundial de Saúde (OMS) registou 445 mil mortes por malária em 2016, 85% das quais na África subsariana [2]. Porém, dos 55 países analisados, 31 apresentavam uma taxa de notificação inferior a 50% (2). A malária é uma doença prevalente na generalidade das regiões tropicais, sendo o *P. falciparum* o agente etiológico mais comum [3]. As outras espécies que infetam o homem são o *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi*. O *P. vivax* é a segunda espécie mais frequente, sendo o agente responsável por 9% dos casos de malária a nível mundial [4]. A infeção por *P. malariae*, menos frequente, ocorre em África, no Sudeste Asiático, na Oceania e na América do Sul [5]. O *P. malariae* apresenta a capacidade de poder causar doença várias décadas após a exposição, embora o mecanismo da sua persistência permaneça desconhecido [6].

Fora das regiões endémicas, a malária pode ocorrer em viajantes que regressam desses locais [7]. Nas últimas décadas, o número crescente de viagens internacionais, tem representado um fator determinante para o aumento do nº de casos de malária importada [8]. Atualmente, estima-se que 80 a 90 milhões de pessoas viajem, por ano, para países onde a malária é endémica, resultando em 30.000 casos de malária importada, por ano, em todo o mundo [9].

Embora a OMS tenha declarado, em 1973, a erradicação de malária autóctone em Portugal [10], esta continua a ser importada de países africanos de língua oficial portuguesa (PALOP), nomeadamente Angola, Moçambique, Guiné-Bissau, São Tomé e Príncipe [9]. Este aumento terá surgido como consequência da crise financeira de 2008, que originou um aumento das migrações relacionadas com o trabalho para as antigas colónias portuguesas [12]. No entanto, os dados nacionais existentes sobre a malária importada são escassos e, geralmente, baseados em descrições de casos pontuais ou em séries de casos diagnosticados em instituições hospitalares isoladas [9] [10]. No Serviço de Urgência (SU) do nosso hospital – Centro Hospitalar Lisboa Norte (CHLN, E.P.E) – entre 2007 e 2016, foram diagnosticados 247 casos de malária importada [13]. Em 92,9% de amostras positivas foi identificada a espécie *P. falciparum*, em 5% *P. vivax*, em 1,43% *P. ovale*, e em 0,71% *P. malariae* [13].

Deste modo, é necessário que a malária integre o conjunto de diagnósticos diferenciais a considerar perante doentes com febre provenientes de regiões endémicas. Um diagnóstico correto e atempado é um pré-requisito para uma atitude terapêutica adequada [14]. Porém, os contadores hematológicos utilizados correntemente para realização de hemograma, não foram especificamente

desenhados para identificar alterações associadas a malária [15]. Neste contexto, a observação, por microscopia ótica, de esfregaço de sangue periférico (ESP), permanece indispensável para o diagnóstico de malária na prática clínica diária. No entanto, a sua realização exige um pedido explícito por parte do clínico e a sua observação apresenta uma sensibilidade variável [16].

Descrição do caso

Uma mulher de 28 anos, residente em Angola recorreu a assistência médica devido a um quadro clínico de febre, calafrios, mialgias, tosse, cefaleias e diarreia, sem sangue ou muco. O hemograma revelou trombocitopenia (131.000/mL), sem outras alterações. A pesquisa de *Plasmodium spp* no ESP foi negativa e a pesquisa de anticorpos anti-Dengue (IgM+IgG) também negativa. Assumiu tratar-se de pneumonia adquirida na comunidade (PAC) e medicada com ciprofloxacina *per os*. Dois dias depois, a doente viajou para Portugal, onde recorreu ao serviço de urgência (SU), devido a persistência dos sintomas. Ao exame objetivo, encontrava-se consciente, orientada no espaço e no tempo e colaborante. Apresentava uma temperatura timpânica de 38,1 °C, tensão arterial (TA) de 125/87 mmHg, frequência cardíaca (FC) de 78 bpm e a frequência respiratória (FR) de 20 ciclos por minuto. A pele e as mucosas encontravam-se coradas e hidratadas. Não se observou lesões cutâneas; as esclerótidas não apresentavam coloração ictérica; a orofaringe não revelava hiperémia. A auscultação cardíaca era rítmica, sem sopros audíveis. Na auscultação pulmonar, o murmúrio vesicular encontrava-se mantido e simétrico, sem presença de ruídos adventícios. O abdómen apresentava dor difusa à palpação profunda, sem defesa e com ruídos hidroaéreos presentes, de timbre e frequência normais. O fígado e o baço não eram palpáveis. Não existia edema nos membros inferiores nem gânglios linfáticos palpáveis.

O hemograma realizado no SU (tab. 1) revelou agravamento da trombocitopenia (47.000x10⁶/L). Relativamente aos parâmetros de bioquímica (tab. 2), observava-se elevação das transaminases (ALT 124 U/L, AST 97 U/L), da GGT (165 U/L), da LDH (374 U/L) e da proteína C reativa (2,66 g/dL). Foi realizado um ESP para pesquisa de *Plasmodium spp*, que não foi detetado. Os anticorpos anti-dengue (IgM+IgG) foram novamente negativos. A radiografia de tórax pósterio-anterior não revelou alterações. Foi assumido tratar-se de uma infeção viral, e a doente teve alta hospitalar, com a adoção de medidas sintomáticas.

Três dias depois, a doente regressou ao SU, devido a persistência da febre (38,5°C). O hemograma identificou, entre os leucócitos, 8% de *large unstained cells* (LUC). A doente mantinha trombocito-

Tabela 1. Hemograma realizado no SU.

Hemograma	1ª ida ao SU	2ª ida ao SU	IR
Hemoglobina (g/dL)	13,8	13,9	12,00 – 15,30
Leucócitos ($\times 10^6/L$)	4.900	7.010	4.000 – 11.000
Neutrófilos ($\times 10^6/L$)	3.830 (78,2%)	4.230 (60,3%)	1.900 – 7500
Eosinófilos ($\times 10^6/L$)	110 (2,3%)	100 (1,4%)	0,00 – 500
Basófilos ($\times 10^6/L$)	20 (0,5%)	90 (1,3%)	0,00 – 200
Linfócitos ($\times 10^6/L$)	820 (16,8%)	2.250 (32,1%)	1.000 – 4.800
Monócitos ($\times 10^6/L$)	110 (2,2%)	340 (4,9%)	100 – 1.000
LUC ($\times 10^6/L$)	132,3 (2,7%)	560,8 (8%)	90 – 290
Plaquetas ($\times 10^6/L$)	47.000	82.000	150.000 – 450.000

Abreviaturas: SU, serviço de urgência; IR, intervalo de referência; LUC, large unstained cells.

Tabela 2. Bioquímica realizada no SU.

Bioquímica	1ª ida ao SU	2ª ida ao SU	IR
ALT (U/L)	124	102	0 – 33
AST (U/L)	97	58	0 – 32
GGT (U/L)	165	180	0 – 40
Bilirrubina total(mg/dL)	0,78	0,46	< 1,2
LDH (U/L)	374	364	100 – 250
Creatinina (mg/dL)	0,67	0,63	0,50 – 0,90
PCR (mg/dL)	2,66	4,52	<0,5

Abreviaturas: SU, serviço de urgência; IR, intervalo de referência; ALT, alanina transaminase; AST, aspartato transaminase; GGT, gamma-glutamil transferase; LDH, lactato desidrogenase; PCR, proteína C reativa.

pênia embora com uma contagem de plaquetas superior à anterior ($82.000 \times 10^6/L$).

Foi realizado um ESP para contagem leucocitária diferencial. Os eritrócitos não apresentavam macrocitose nem hipocromia. Diferentes formas do ciclo de vida do *P. malariae* foram então observadas: trofozoítos em anel, pequenos, embora de contorno menos delicado do que os de *P. falciparum*; trofozoítos em banda (fig. 1); esquizontes com cerca de 6 a 8 merozoítos, assumindo forma de margarida, com pigmento central de tonalidade amarelo-acastanhada (figs. 2 e 3). Posto isto, foi estabelecido o diagnóstico de malária por *P. malariae*.

A doente foi medicada com atovaquona / proguanil (250 mg / 100 mg) durante 3 dias, e reavaliada 1 semana depois. Nessa avaliação, encontrava-se apirética, com normalização da contagem plaquetar e descida das transaminases para valores normais. No ESP, não foi identificada qualquer forma de *P. malariae*.

Fig.1 - Trofozoíto "em banda" de *P. malariae*. ESP (100x)

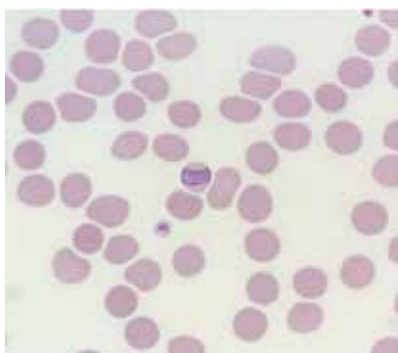


Fig.2 - Esquizonte de *P. malariae*: 8-10 merozoítos, em forma de "margarida". ESP (100x)

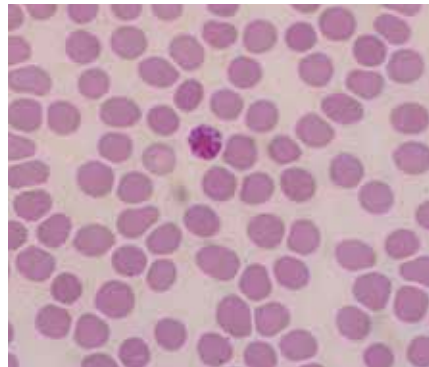
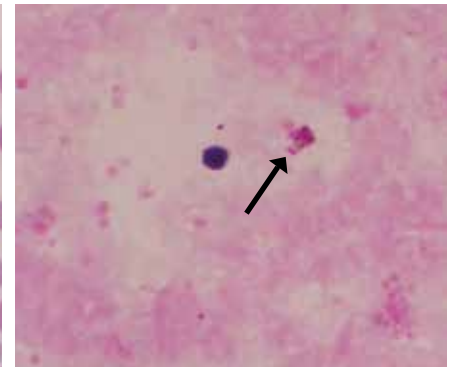


Fig.3 - Esquizonte de *P. malariae* (seta). Gota espessa (100x)



Conclusões

O diagnóstico de malária deve ser tido em consideração perante um doente com febre, residente ou com viagem recente a um país onde a malária seja endêmica. Contudo, este diagnóstico pode passar despercebido, e mesmo algumas alterações dos parâmetros laboratoriais, podem não desencadear a realização de ESP [17].

As manifestações clínicas de malária podem incluir febre, calafrios, diaforese, cefaleias, fadiga, mal-estar, mialgias, artralgias, taquicardia, taquipsia, tosse, anorexia, náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia [17]. O exame físico pode revelar icterícia, esplenomegalia e / ou hepatomegalia. A maioria dos doentes não-imunes apresenta picos febris diários. Em indivíduos semi-imunes, o intervalo entre picos febris pode refletir a duração do ciclo reprodutivo da espécie envolvida – no caso do *P. malariae*, esse período é de 72 horas (febre quartã).

A avaliação laboratorial de doentes com suspeita de malária deve incluir: hemograma (para pesquisa de anemia, leucocitose, leucopenia ou trombocitopenia); perfil de bioquímica geral – ionograma, ureia, creatinina, glicemia (para avaliação do equilíbrio hidro-eletrolítico, da função renal, do estado metabólico); provas de função hepática, incluindo bilirrubina total e fracionada (para avaliação de hemólise ou de hepatite); doseamento PCR. Numa revisão sistemática, as alterações laboratoriais que apresentaram maior correlação com o diagnóstico de malária foram trombocitopenia e hiperbilirrubinemia [18]. Porém, embora a ausência destas alterações tornasse o diagnóstico de malária menos provável, não permitiam a sua exclusão [18]. Já nos doentes que recorreram ao nosso SU, no período entre 2007 e 2016, as alterações analíticas mais frequentes, foram: trombocitopenia (70,04%), e elevação da LDH (80,57%) [13]. Além destas alterações, apresentavam também anemia (25,10%) e elevação dos seguintes parâmetros bioquímicos: ALT (47,70%), creatina cinase (CK) (47,70%); bilirrubina total (42,51%) e PCR (44,94%) [13].

O diagnóstico de malária é realizado tendo por base a microscopia ótica (com a visualização de formas parasitárias em ESP) ou a realização de teste de diagnóstico rápido (RDT), que permite a detecção de antígenos ou anticorpos [19]. As técnicas moleculares para detecção de material genético são utilizadas geralmente em contexto de investigação. A observação de ESP permite a visualização de formas parasitárias; a identificação da espécie em causa e das etapas do ciclo de vida presentes; a determinação da parasitemia; a monitorização da resposta à terapêutica e a identificação de agravamento ou recidiva [16]. Neste contexto, são utilizados dois ti-

pos de ESP: esfregaço fino e gota espessa. A preparação de esfregaço fino mantém a integridade e a morfologia eritrocitárias, permitindo que os parasitas sejam visíveis no interior dos glóbulos vermelhos. A preparação da gota espessa envolve a lise mecânica dos eritrócitos, de modo que os parasitas podem ser visualizados independentemente das estruturas celulares. A gota espessa permite a observação de maior volume de sangue, o que se traduz numa maior sensibilidade de detecção do parasita, atribuindo à gota espessa particular relevância no rastreio de malária [19]. O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos América, dispõem de orientações *on-line*, que devem ser seguidas na preparação e coloração de ESP para diagnóstico de malária [20]. Os parasitas devem ser visualizados com a objetiva de ampliação de 100x (imersão); deve ser realizada observação de 200 a 500 campos, durante 20 a 30 minutos [20]. Se existir suspeita de malária e a pesquisa de *Plasmodium* for negativa, devem ser observados ESP adicionais nas próximas 48 a 72 horas. Com efeito, o CDC recomenda a repetição do esfregaço fino e da gota espessa a cada 12 a 24 horas, até perfazer um total de três conjuntos, antes de poder ser excluída a hipótese diagnóstica de malária [21].

Porém, a observação de ESP é um procedimento que exige tempo suficiente para ser efetuado corretamente e requer experiência na sua realização. Caso se cumpram estes pré-requisitos, a sensibilidade da microscopia pode ser excelente, com detecção de formas parasitárias de *Plasmodium* em densidades tão baixas como 4 a 20 parasitas/ μ L de sangue (aproximadamente 0,00015% a 0,0005% de parasitemia) [22]. Contudo, parasitemias de baixa densidade (10 a 100 parasitas/ μ L de sangue) podem passar despercebidas, mesmo podendo ocorrer, ainda que mais raramente, com densidades superiores [23]. Por outro lado, a sensibilidade e a especificidade da pesquisa de *Plasmodium* em ESP em centros com recursos limitados encontram-se frequentemente abaixo dos níveis alcançados em laboratórios de referência ou de investigação [24]. Já em laboratórios bem equipados, localizados em áreas onde malária não é endêmica, a variabilidade nas técnicas utilizadas para a preparação e interpretação do ESP pode influenciar os resultados, sobretudo em centros com experiência limitada em doenças tropicais [16].

A infeção por *P. malariae* geralmente origina sintomatologia ligeira e parasitemia relativamente baixa [17]. Caso permaneça assintomática, pode mesmo persistir, meses ou anos e manifestar-se apenas por anemia [25]. Neste doente em particular, além da trombocitopenia revelada no hemograma, foi a contagem de LUC que desencadeou a observação do PBS.

Embora os contadores hematológicos utilizados na prática clínica atual não tenham sido especificamente

desenhados para detetar alterações relacionadas com a malária, os diagramas de dispersão por eles gerados podem apresentar alterações decorrentes da infecção por *Plasmodium* [15]. No entanto, o seu desempenho no diagnóstico de malária é variável, consoante a espécie em causa, o nível de parasitemia, a imunidade do doente e o seu contexto clínico [15].

O contador hematológico atualmente em uso no nosso laboratório é o ADVIA 2120® (Siemens®), no qual foram realizados os hemogramas da doente apresentada neste caso clínico. O equipamento ADVIA 2120® (Siemens®) integra, na sua estrutura, um canal de peroxidase, onde circula um reagente que gera peróxido de hidrogénio. Nas células onde existe peroxidase, o peróxido de hidrogénio é decomposto, ocorrendo oxidação do agente cromogénico 4-cloro-1-naftol [26]. Forma-se assim um precipitado escuro, nos grânulos intracelulares. A acumulação desse precipitado é abundante nos eosinófilos e neutrófilos, escassa em monócitos, e ausente em linfócitos e basófilos [26]. Além das células normais, o canal de peroxidase também permite a deteção de células de maiores dimensões, negativas para a peroxidase, que identifica como de *large unstained cells* (LUC) [26].

Nos doentes com malária, a presença de LUC, corresponde, regra geral, a linfócitos ativadas na sequência da resposta imunológica contra a infecção [15]. O 2º hemograma desta doente realizado no SU revelou 8% de LUC. Foi esta alteração encontrada no hemograma que motivou a observação do ESP, para contagem diferen-

cial leucocitária. Foram, então, observadas diferentes formas do ciclo de vida *P. malariae*. Uma vez estabelecido o diagnóstico de malária e instituída a terapêutica adequada, devem ser realizados ESP em série, de modo a monitorizar a resposta parasitológica à terapêutica e garantir a resolução da infecção [27].

Doentes com malária não-complicada por *P. vivax*, *P. ovale* ou *P. malariae*, na ausência de outras comorbidades, podem ser seguidos em regime ambulatorio [17]. A terapêutica preconizada pela OMS consiste em terapêutica combinada com artemisinina (ACT), uma vez que a curta sem-vida curta exige a associação com outro antipalúdico [27, 28]. Esta combinação permite um regime terapêutico de três dias. Contudo, as artemisininas não se encontram disponíveis em toda a Europa, enfrentando vários obstáculos à sua implementação na prática clínica [12]. O mesmo acontece em Portugal, onde as artemisininas não se encontram imediatamente acessíveis, embora possam ser solicitadas mediante autorização institucional [12]. Deste modo, continua a administrar-se outros agentes disponíveis como a associação atovaquona-proguanil (prescrita a esta doente) [27]. Importa referir que a terapêutica anti-malárica pode alterar o aspeto morfológico das formas parasitárias e eventualmente comprometer a sua identificação em ESP, quer no momento do diagnóstico inicial (caso tenha sido instituída terapêutica empírica prévia), quer durante a monitorização de resposta a terapêutica instituída após o diagnóstico [27].

Bibliografia

- Murray CJ, Rosenfeld LC, Lim SS, et al. (2012). Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet*. 379 (9814):413–431.
- World Health Organization (2017). World Malaria Report 2017. Consultado em 15 de Janeiro de 2018. In: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259492/1/9789241565523-eng.pdf?ua=1>.
- Guerra CA, Gikandi PW, Tatem AJ, et al. (2008). The limits and intensity of *Plasmodium falciparum* transmission: implications for malaria control and elimination worldwide. *PLoS Med*. 5(25):300-311.
- Gething PW, Elyazar IR, Moyes CL, et al. (2012). A long neglected world malaria map: *Plasmodium vivax* endemicity in 2010. *PLoS Negl Trop Dis*. 6(9):1-12.
- Mueller I, Zimmerman PA, Reeder JC (2007). *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale* - the "bashful" malaria parasites. *Trends Parasitol*. 23(6):278-83.
- Hwang J, Cullen KA, Kashur SP, et al. (2014). Severe morbidity and mortality risk from malaria in the United States, 1985-2011. *Open Forum Infect Dis*. 1 (1):1-8.
- Muentener P, Schlagenhauf P, Steffen R (1999). Imported malaria (1985–95): trends and perspectives. *Bulletin of the World Health Organization*. 77(7):560–566.
- Badiaga S, Brouqui P, Carpentier JP et al. (2005). Severe imported malaria: clinical presentation at the time of hospital admission and outcome in 42 cases diagnosed from 1996 to 2002. *Emerg Med*. 29(4):375-82.
- Fonseca AG, Dias SS, Baptista JL, Torgal J (2014). Imported Malaria in Portugal 2000–2009: A Role for Hospital. *Malaria Research and Treatment*. 373029:1-8.
- Castro L, Cardoso AI, Queirós L, Gonçalves G (2004). Malária na Região Norte de Portugal (1993 – 2002). *Acta Médica Portuguesa*. 17:291-298.
- Direção Geral da Saúde (2015). Doenças de Declaração Obrigatória 2011- 2014, Volume II - Regiões. Consultado em 15 de Fevereiro de 2018. In: <https://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/doencas-de-declaracao-obrigatoria-2011-2014-volume-ii-pdf.aspx>.
- Hänscheid T (2016). News about malaria: the good, the bad and the ugly. *Infecção & Sepsis*. 2(2):6-5.
- Lemos C, Vaz Carneiro C, Amaral T (2017). Analytical findings in imported malaria. In: IFCC WorldLab [Book of Abstracts] International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; Durban, South Africa (October 22-25).

14. Bailey JW, Williams J, Bain BJ, et al. (2013) Guideline: the laboratory diagnosis of malaria. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 163(5):573-80.
15. Campuzano-Zuluaga G, Hänscheid T, Grobusch MP (2010). Automated haematology analysis to diagnose malaria. *Malaria Journal.* 9 (346):1-15.
16. Kettelhut MM, Chiodini PL, Edwards H, Moody A (2003) External quality assessment schemes raise standards: evidence from the UKNEQAS parasitology subschemes. *J Clin Pathol.* 56(12):927-32.
17. Baird J, Price R. Non-falciparum malaria: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, and *Plasmodium malariae* (2017). Consultado em 15 de Janeiro de 2018. In: <https://uptodate.com/contents/non-falciparum-malaria-plasmodium-vivax-plasmodium-ovale-and-plasmodium-malariae>.
18. Taylor SM, Molyneux ME, Simel DL, et al (2010). Does this patient have malaria? *JAMA.* 304(18):2048-56.
19. Abanyie FA, Arguin PM, Gutman J (2011) State of malaria diagnostic testing at clinical laboratories in the United States, 2010: a nationwide survey. *Malar J.* 10(340):.
20. CDC (2016). Preparation of blood smears. Consultado em 15 de Janeiro de 2018. In: https://www.cdc.gov/dpdx/resources/pdf/benchaid/malaria/malaria_procedures_benchaid.pdf.
21. CDC (2013) Treatment of Malaria (Guidelines for Clinicians). Consultado em 15 de Janeiro de 2018. In: <https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/clinicalguidance.pdf>.
22. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, et al. (2007) A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *Am J Trop Med Hyg.* 77(6 Suppl):119-27.
23. Kilian AH, Metzger WG, Mutschelknauss EJ, et al. (2000) Reliability of malaria microscopy in epidemiological studies: results of quality control. *Trop Med Int Health.* 5(1):3-8.
24. Kahama-Maró J, D'Acremont V, Mtasiwa D, et al. (2011) Low quality of routine microscopy for malaria at different levels of the health system in Dar es Salaam. *Malar J.* 10(332):1-10.
25. Douglas NM, Lampah DA, Kenangalem E, et al. (2013) Major burden of severe anemia from non-falciparum malaria species in Southern Papua: a hospital-based surveillance study. *PLoS Med.* 10(12): e1001575.
26. BJ, Bain (2015). *Blood Cells - A Practicle Guide.* 5th edition. Wiley Blackwell, Oxford, United Kingdom.
27. WHO (2015) Guidelines for the treatment of malaria. Third edition. Consultado a 20 de Janeiro de 2018. In: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/162441/1/9789241549127eng.pdf?ua=1&ua=1>
28. Griffith KS, Lewis LS, Mali S, Parise ME (2007) Treatment of malaria in the United States: a systematic review. *JAMA.* 297(20):2264-77.

Conflito de interesses

Os autores declaram a inexistência de conflito de interesses na realização deste trabalho.