

SIGHT DIAGNOSTICS PARASIGHT: NOVO MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DA MALÁRIA EM ANGOLA

Gisel Reyes Castro¹, Garcia Nazaré Pembele¹, Zoraima Neto¹, Marinela Mirandela¹, Domingos Jandondo¹, Joana Paula Paixão¹, Jocelyne Vasconcelos¹, Joana de Morais Afonso¹

1. Instituto Nacional de Investigação em Saúde (INIS), Ministério da Saúde, Luanda, Angola

Recebido 11.09.2018 | Aceite 14.07.2019

RESUMO

Introdução: A malária é considerada um grande problema de saúde pública a nível mundial, constituindo a primeira causa de morbimortalidade em Angola.

Método: O Instituto Nacional de Investigação em Saúde (INIS) realizou um estudo descritivo transversal para avaliar a sensibilidade e especificidade do equipamento "sight diagnostics parasight" em 271 amostras de sangue de pacientes com suspeita de malária, atendidos em 6 unidades sanitárias de Luanda, no período de Maio a Junho do ano 2018. Estas foram analisadas pelo TDR, gota espessa (padrão de ouro) e pelo dispositivo médico sight diagnostics parasight.

Resultados: O equipamento conseguiu detectar infecções por *Plasmodium* com uma sensibilidade de 92.5% e uma especificidade de 98.3% na detecção e identificação dos parasitas da malária. A plataforma sight diagnostics parasight é uma nova opção e uma nova abordagem para o diagnóstico da malária, capaz de identificar e quantificar parasitas da malária e de fornecer avaliações de malária altamente sensíveis mais rapidamente do que os testes actualmente existentes no mercado.

Conclusões: O Instituto Nacional de Investigação em Saúde recomenda o uso deste equipamento dentro do Sistema Nacional de Saúde, com realce para os locais com alta demanda onde haja pelo menos uma fonte de energia eléctrica e pessoal capacitado para o uso deste equipamento.

PALAVRAS CHAVES: malária, diagnóstico, computacional, inteligência artificial.

CORRESPONDÊNCIA

Gisel Reyes Castro

Endereço: Instituto Nacional de Investigação em Saúde (INIS).

Rua Amílcar Cabral, Travessa dos Remédios, Maianga, Luanda, Angola

E-mail: gisel1974rr@gmail.com

Sight Diagnostics Parasight - New malaria diagnosis method in Angola

SUMMARY

Introduction: Malaria is considered a major public health problem worldwide and is the leading cause of morbidity and mortality in Angola.

Method: The National Institute for Health Research (INIS) conducted a cross-sectional descriptive study to evaluate the sensitivity and specificity of the medical device "sight diagnostics parasight" in 271 blood samples from suspected malaria patients treated at 6 health facilities in Luanda, from May to June 2018. These were analyzed by TDR, thick/thin blood smears (gold standard) and by the medical device sight diagnostics parasight.

Results: The equipment sight diagnostics parasight was able to detect *Plasmodium* infections with a sensitivity of 92.5% and a specificity of 98.3% in the detection and identification of malaria parasites. The sight diagnostics parasight platform is a new option and a new approach to malaria diagnosis capable of identifying and quantifying malaria parasites and provide highly sensitive malaria assessment more quickly than current tests available in the market.

Conclusions: The National Institute of Health Research (INIS) recommends the use of this equipment within the National Health System, where there is a high demand, at least a source of electrical energy and qualified personnel trained to use this equipment.

KEYWORDS: malaria, diagnosis, computational, artificial intelligence.

INTRODUÇÃO

A malária é uma das doenças febris com alto potencial epidémico em Angola e constituiu a primeira causa de morbimortalidade,

facto que merece atenção especial^{1,2}. É uma doença parasitária, transmitida pela picada do mosquito fêmea do género anófeles¹, sendo as espécies, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* causadoras de malária no homem. A região da África subsaariana abrigou, em 2017, 90% dos casos de malária e 91% das mortes foram atribuídas a esta doença, que continua sendo um grande problema de saúde pública a nível mundial³.

O diagnóstico preciso da malária antes do tratamento é imprescindível para reduzir as taxas de mortalidade e prevenir a propagação de espécies de *Plasmodium* resistentes à malária e para limitar os efeitos secundários desnecessários de medicamentos administrados incorrectamente¹. Como resultado, varias organizações governamentais de saúde agora requerem que se façam ao paciente testes de malária antes da administração dos antimaláricos, o que impulsionou um aumento no número de testes de diagnóstico e estima-se que serão realizados 1 milhão de testes de diagnóstico para malária até 2020^{1,2}.

As informações recentes demonstram que há um grande número de portadores de malária que mantêm baixas parasitemias, facto que aumenta a necessidade de se ter técnicas de diagnóstico cada vez mais sensíveis^{3,4}. A microscopia óptica continua ser o teste de malária mais utilizado no mundo para o diagnóstico^{5,6}. Na maioria dos casos a microscopia pode ser muito exacta e os limites de detecção típicos podem ir de 300 até 1000 parasitas por microlitro (μ l) de sangue e requer pessoal altamente capacitado e com bastante experiência na área da microscopia óptica^{7,8}. No entanto, o aparelho Sight Diagnostics, produzido pela empresa israelita Sight Diagnostics, aumenta a precisão da detecção de *Plasmodium* e permite reduzir o limite de detecção a 20 parasitas / μ l. Vários estudos demonstram a sensibilidade deficiente da microscopia, resultante de técnicos com formação deficiente e mal treinados e devido à fadiga que se regista nas unidades sanitárias onde existe sobrecarga de trabalho e poucos recursos humanos capacitados^{9,10}.

Recentemente, a popularidade dos testes rápidos de diagnóstico tem aumentado nas unidades sanitárias pela sua facilidade de utilização¹¹. Contudo, os testes rápidos têm pouca sensibilidade

ARTIGO ORIGINAL

Sight Diagnostics Parasight: Novo Método de diagnóstico da malária em Angola

no que diz respeito aos casos de malária com baixa parasitemia, havendo também discrepância nos resultados obtidos, dependendo das marcas e dos lotes comerciais existentes no mercado^{12,13}. Com a chegada do PCR e outros métodos de amplificação molecular já se demonstrou que muitos indivíduos infectados com o parasita da malária não são diagnosticados correctamente através da microscopia óptica. Por outro lado, apesar da sensibilidade do PCR, os custos elevados e a capacitação técnica associada a estas técnicas moleculares não permitem o alargamento da sua aplicação em grande escala nas regiões endémicas^{14,15}.

Em Angola, a oferta de diagnósticos imediatos e tratamento oportuno e correcto têm limitações dentro do Serviço Nacional de Saúde que devem ser superadas através do reconhecimento da importância do desenvolvimento de serviços laboratoriais e da padronização de um sistema de controlo de qualidade do diagnóstico da malária que integre e padronize acções em diferentes aspectos do processo e corrija as limitações dos procedimentos actuais. Como é sabido, hoje concentram-se em monitorar o desempenho dos microscopistas por meio da revisão e análise de preparações de gota espessa para o refrescamento dos conhecimentos técnicos dos profissionais de saúde. Com o surgimento de novas tecnologias, tais como a plataforma sight diagnostics parasight, fabricada em Israel, abrem-se novas oportunidades para melhorar o diagnóstico da malária, minimizando o risco de erro humano associado ao exame microscópico de gota espessa/esfregaço. O mesmo equipamento já foi validado e é utilizado no diagnóstico da malária em países como a França, Índia, Dubai, Costa do Marfim, Gabão, África do sul e Gana^{5,6,13}. Os objetivos deste artigo são validar a capacidade diagnóstica (sensibilidade e especificidade) do equipamento sight diagnostics parasight, de modo a aferir e confirmar a sua utilidade no diagnóstico da malária em Angola.

MATERIAL & MÉTODOS

Desenho do estudo

Realizou-se um estudo descritivo transversal para avaliar a sensibilidade e especificidade do aparelho da marca Sight Diagnostics Parasight em pacientes referenciados ao Instituto Nacional de Investigação em Saúde, no mês de Maio a Junho do

ano 2018 (20 dias laborais). O universo foi constituído por um total de 271 amostras de pacientes, colhidas em várias unidades sanitárias da província de Luanda com o objectivo de aferir a utilidade do equipamento como dispositivo médico capaz de diagnosticar o parasita da malária e para a realização desta validação foi obtida a aprovação do Comité de Ética do Instituto Nacional de Investigação em Saúde (INIS) para o uso de todas as amostras, no âmbito da investigação científica.

Colheita e análise das amostras

A recolha do sangue foi realizada nas seguintes unidades sanitárias: Hospital Josina Machel- Maria Pía, Hospital Pediátrico David Bernardino, Centro de Saúde do Cassequel do Buraco, Centro de Saúde do Zango, Centro de Saúde da Samba, Luanda Medical Centre, onde foram seleccionados 45 pacientes por cada unidade hospitalar, utilizando o método de amostras simples aleatórias. As mesmas foram colhidas em tubos de colheita com EDTA (vacutainer) e armazenadas entre 2 a 8 graus celsius (cº) até o seu processamento. As amostras foram analisadas no mesmo dia pelas 3 técnicas de laboratório: Teste rápido (SD Bioline) para se fazer o rastreio inicial, microscopia óptica (Olympus) e pela plataforma automática sight diagnostic parasight (Sight Diagnostics), de acordo com as instruções do fabricante. Em relação à gota espessa, procedeu-se como indicado pelas normas da OMS para o diagnóstico de malária: as lâminas foram coradas pelo método de Giemsa a 3% (Merck) por 20 minutos. Para a sua visualização utilizou-se óleo de imersão e o microscópio óptico (Olympus) com a utilização da objectiva de 100X e uma contagem de pelo menos 100 campos por lâmina. As lâminas foram analisadas por microscopistas licenciados do INIS, especializados em diagnóstico laboratorial da malária e os níveis de parasitemia foram calculados como a proporção de hemácias infectadas em relação ao total de hemácias. Para tal utilizou-se a seguinte fórmula recomendada pela Organização Mundial da saúde (OMS) e o Programa Nacional do Controlo da Malária em Angola (PNCMA)^{1,16}.

Níveis de parasitemia = $\frac{\text{Nos parasitas contados} \times 8000}{\text{hemácias} \div 200 \text{ leucócitos}}$.

Os gametócitos não foram incluídos na contagem final de parasitas.

Na plataforma automática sight diagnostic parasight, 5µl do sangue de cada paciente foi retirado de cada amostra do paciente colhida e misturado com 500µl de uma solução de corante. Esta solução de corante (ou solução de trabalho) é composta por 10 ml de diluente fornecido pela empresa, que é misturado com 170µl de uma solução de fluorocromos (marcadores fluorescentes) que coram o DNA dos parasitas. Desta mistura foram então colocados 35µl em cada lâmina distribuídos igualmente em toda a sua superfície, formando uma monocamada e desta feita a amostra foi inserida no equipamento sight diagnostic parasight. A lâmina foi digitalizada com três diferentes fontes de luz LED (370 nm, 475 nm e 530 nm). O tempo total de exposição por amostra foi de 4 minutos e o dispositivo foi capaz de analisar 25 amostras de uma única vez. Aproximadamente 800 imagens por amostra foram digitalizadas em tempo real.

Durante a verificação, o dispositivo analisou cerca de 1800.000 glóbulos vermelhos, plaquetas, trofozoítos, esquizontes e os gametócitos. O equipamento tem um algoritmo que analisa, detecta, numera e identifica as espécies de *Plasmodium* presentes em cada amostra. O equipamento analisa a mesma amostra em duplicado, aumentando a reprodutibilidade dos resultados. Cada lâmina tem um código de barras único, associado à amostra do paciente, e o equipamento vem acoplado a um computador que envia o resultado para a sua tela. Amostras com mais de 48 horas após colheita são rejeitadas pelo equipamento devido à hemólise do sangue e à formação de pequenos coágulos que podem entupir os tubos do equipamento. Os resultados são emitidos como número de parasitas por microlitro de sangue, classificando a parasitemia por baixa, moderada e alta, de acordo com os critérios da OMS^{5,12-15}.

Resultados

A microscopia, os testes de diagnóstico rápido (TDR) e o equipamento sight diagnostics parasight foram utilizados como base para comparação dos resultados, portanto, a sensibilidade e a especificidade da microscopia e dos testes rápidos foi comparada com o equipamento automático sight diagnostics parasight. O maior número de amostras foi proveniente dos centros de saúde, com um total de 181 amostras que corresponde 66.9%, seguido pelo Hospital Pediátrico David Bernardino, com 35

amostras (12.9 %). Em termos de sensibilidade, a sensibilidade do TDR foi de 88.8%, com um intervalo de confiança de IC 95%, 86,2-92 e a sensibilidade do equipamento automático sight diagnostic parasight foi de 92,5%, com um intervalo de confiança de IC 95%, 90,6-94,9%, em comparação com a microscopia óptica, o que significa uma elevada probabilidade de diagnosticar pessoas realmente doentes de malária.

A especificidade do TDR, em comparação com microscopia óptica, foi de 97,1% IC 95% 92,8-99,7% e a especificidade do equipamento sight diagnostic parasight foi de 98,3% IC 95% 96,3-100%, o que significa que a probabilidade deste equipamento informar resultados negativos a pessoas saudáveis é muito alto (Tabela 1). Para isso foi utilizado o programa estatístico SPSS, Versão 22.0. Os valores preditivos positivos e os valores preditivos negativos de igual forma são de 86.2 % e 99.1 %, respectivamente, o que significa que a probabilidade de uma pessoa estar infectada com o parasita da malária, quando o teste é positivo, é de 86.2% e que a probabilidade de uma pessoa não estar infectada com o parasita da malária, quando o resultado do teste é negativo, é de 99.1%.

O equipamento apresenta capacidade de detectar e quantificar as seguintes espécies de *Plasmodium*: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax/Plasmodium ovale* mas não consegue distinguir entre *P.vivax/P.ovale*. Nestes casos, será necessária a confirmação da espécie de *Plasmodium vivax* ou *Plasmodium ovale* por um especialista experiente. Entre as desvantagens deste equipamento estão a incapacidade do mesmo actualmente não conseguir detectar *Plasmodium malarie* e *Plasmodium knowlesi*. Em termos de condições laboratoriais, o uso deste equipamento requer um laboratório com acesso a luz eléctrica, um frigorífico à temperatura de 4º-8ºC para conservação dos reagentes, que devem ser preservados a esta temperatura para garantir a estabilidade e a integridade dos reagentes a longo prazo. Além disso, as amostras devem ser processadas num espaço de 48 horas, pois as amostras com mais de 48 horas após colheita serão rejeitadas devido à hemólise⁵⁻⁹. A identificação das espécies de *Plasmodium* foi feita nas mesmas amostras em estudo e os resultados foram comparados com os achados da microscopia (Tabela 2), o TDR(SD Bioline) fabricado na Coreia do Sul. O kit é composto por 25 testes em cada caixa, com a capacidade de detectar as proteínas de *Plasmodium* HRP (Histidine Rich Protein)

ARTIGO ORIGINAL

Sight Diagnostics Parasight: Novo Método de diagnóstico da malária em Angola

e PLDH (Parasite Lactate dehydrogenase) e também se utilizou o teste rápido para diagnóstico de *Plasmodium falciparum*/*Plasmodium vivax* (Pf/Pv), capaz de detectar a proteína PLDH de *Plasmodium falciparum* e PLDH de *Plasmodium vivax*. Estes testes rápidos demonstraram uma identificação das espécies

de 50% para *Plasmodium vivax* e 98,6% para *Plasmodium falciparum*, enquanto o equipamento sight diagnostics mostrou a identificação de 100% das espécies para *P. vivax* e para *P. falciparum*.

Tabela 1 – Sensibilidade e Especificidade do dispositivo médico Sight Diagnostics Parasight versus microscopia óptica.

Sight Diagnostics Parasight	Microscopia óptica (Gota espessa/esfregaço de sangue)		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	25	4	29
Negativo	2	240	242
Total	27	244	271

Sensibilidade (S) = 92,5 %. IC: [90,6 a 94,9]

Especificidade (E) = 98,3%. IC: (98.3 [96,3 a 100])

Tabela 2 – Identificação das espécies pelo teste rápido de diagnóstico (TDR), a plataforma sight diagnostics versus microscopia óptica.

Método diagnóstico	Total de espécies de <i>Plasmodium</i> identificadas pela microscopia [IC 95%]			
	<i>P. Falciparum</i>		<i>P. Vivax</i>	
	No (%)	IC 95%	No (%)	IC 95%
TDR	24/25 (98,6%)	91,5 - 99,7	1/2 (50%)	43,9 - 49,1
Sight Diagnostics Parasight	25/25 (100%)	96,5 - 100	2/2 (100%)	95,9 - 100

DISCUSSÃO

A crescente demanda por testes de malária rápidos e altamente precisos criou uma necessidade não atendida no mercado de diagnósticos de malária. Numerosos estudos mostraram pouca precisão, tanto para o TDR quanto para a microscopia óptica, exigindo desta forma o desenvolvimento de novas tecnologias. A plataforma sight diagnostic parasight é um novo método para o diagnóstico da malária que pode fornecer diagnóstico da malária altamente sensível mais rapidamente do que os testes actualmente existentes no mercado.

O desempenho do dispositivo foi consistente durante a validação deste equipamento. Além disso, as amostras apresentaram níveis significativamente altos de parasitemia, com uma carga parasitária superior a 2% em 6 (22.2%) das amostras positivas, sendo estes resultados semelhantes aos encontrados na Índia e em outros países africanos⁵. O mesmo equipamento já é utilizado no diagnóstico da malária em países como a França, Índia, Dubai, Costa do Marfim, Gabão, África do sul e Gana^{5,6,13}. Embora o dispositivo funcione com muita precisão, houve vários

casos notáveis de discrepâncias, principalmente com amostras hemolisadas, amostras preparadas de forma incorrecta devido ao uso excessivo de sangue usado na sua preparação, sujidade no cartucho ou preparação inadequada da solução de trabalho. Estas amostras rejeitadas pelo equipamento fornecem uma espécie de controlo de qualidade.

É importante ter em mente que os altos valores de sensibilidade e especificidade para microscopia nesses pacientes não reflectem práticas e resultados-padrão. Dois peritos analisaram todas as lâminas microscópicas, com um mínimo de 10 visualizações por lâmina, enquanto na maioria das unidades sanitárias em Angola as lâminas são analisadas por um único técnico uma única vez. Por conseguinte, a sensibilidade real da microscopia em ambientes de laboratório hospitalar está mais próximo de 500 parasitas / ul, como citado em outros lugares na literatura¹⁶.

Actualmente, diversas atualizações estão sendo desenvolvidas para melhorar o desempenho do sistema sight diagnostics parasight, devido às limitações citadas no presente estudo. Além disso, o dispositivo actual não pode distinguir entre *P. vivax* e *P. ovale*. Embora isto seja menos clinicamente problemático, uma vez que as duas formas de infeções por malária requerem os mesmos regimes de medicação, a distinção entre os dois é importante devido a considerações epidemiológicas⁵.

Em conjunto, esses resultados indicam que o equipamento automático sight diagnostics demonstra melhor precisão em comparação com os protótipos anteriores e fornece um valor significativo para a comunidade médica. A distribuição do dispositivo em locais estratégicos levará a um melhor diagnóstico e tratamento da malária, o que, finalmente resultará num roteiro acelerado para a eliminação e futura erradicação da mesma, embora os custos elevados associados a este equipamento e à sua manutenção anual, necessária para o bom funcionamento, possam limitar a distribuição ampla deste equipamento no

Sistema Nacional de Saúde.

CONCLUSÃO

A plataforma sight diagnostics parasight é uma nova opção e uma nova abordagem para o diagnóstico da malária, capaz de identificar e quantificar parasitas da malária e de fornecer avaliações de malária altamente sensíveis mais rapidamente do que os testes actuais de diagnóstico desta doença por possuir uma alta sensibilidade e boa especificidade. A validação das tecnologias de saúde e dispositivos médicos no mercado angolano é de extrema importância para se poder aferir o verdadeiro impacto e a utilidade destes equipamentos no Sistema Nacional de Saúde. Este novo equipamento representa uma mais-valia para as unidades sanitárias, quer públicas quer privadas, com realce para os locais com maior demanda para o diagnóstico da malária e representa também uma mais-valia para os projectos de investigação científica, pesquisa ou surtos de malária onde o número de amostras é elevado. Apesar do número limitado de amostras usados neste estudo, reconhecemos a necessidade de serem efectuados estudos mais alargados, com um maior número de amostras oriundas de várias províncias, para obter uma visão mais global, avaliar a robustez deste equipamento e maximizar o impacto deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

O Instituto Nacional de Investigação em Saúde (INIS) agradece aos funcionários e técnicos de laboratório que participaram na colheita das amostras, nomeadamente Cruz dos Santos Sebastião, Delfina Martins, Marta Chico e Fátima Andresa.

CONFLITO DE INTERESSE

Não existem conflitos de interesse.

FONTE DE FINANCIAMENTO

A fonte de financiamento foi o INIS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World malaria report 2017 [Internet]. WHO | Regional Office for Africa. [citado 26 de Maio de 2019]. Disponível em: <https://www.afro.who.int/publications/world-malaria-report-2017>
2. 1. The burden of malaria in Africa [Internet]. [citado 26 de Maio de 2019]. Disponível em: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Oy0te1nJw2gJ:https://www.againstmalaria.com/downloads/RBMBurdenMalariaAfrica.pdf+&cd=1&hl=pt-PT&ct=clnk&gl=ao>

3. Sachs J. Fim das Mortes por Malária na África | Scientific American Brasil | Nastari Editores [Internet]. [citado 26 de Maio de 2019]. Disponível em: http://www2.uol.com.br/sciam/artigos/fim_das_mortes_por_malaria_na_africa.html
4. Daily J. Malaria diagnostics technology and market landscape. UNITAID; 2014.
5. Eshel Y, Houry-Yafin A, Benkuzari H, Lezmy N, Soni M, Charles M, et al. Evaluation of the Parasight platform for malaria diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2017;55(3):768–775.
6. Yan J, Li N, Wei X, Li P, Zhao Z, Wang L, et al. Performance of two rapid diagnostic tests for malaria diagnosis at the China-Myanmar border area. *Malar J.* 2013;12(1):73.
7. Arya SC, Agarwal N. Laboratory tests for malaria: A diagnostic conundrum? *SAMJ South Afr Med J.* 2013;103(10):701–701.
8. Harchut K, Standley C, Dobson A, Klaassen B, Rambaud-Althaus C, Althaus F, et al. Over-diagnosis of malaria by microscopy in the Kilombero Valley, Southern Tanzania: an evaluation of the utility and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests. *Malar J.* 2013;12(1):159.
9. Façoncy C, Sebastião YV, Pires JE, Gamboa D, Nery SV. Performance of microscopy and RDTs in the context of a malaria prevalence survey in Angola: a comparison using PCR as the gold standard. *Malar J.* 2013;12(1):284.
10. Mouatcho JC, Goldring JD. Malaria rapid diagnostic tests: challenges and prospects. *J Med Microbiol.* 2013;62(10):1491–1505.
11. Alonso PL, Tanner M. Public health challenges and prospects for malaria control and elimination. *Nat Med.* 2013;19(2):150.
12. Hopkins H, González IJ, Polley SD, Angutoko P, Ategeka J, Asiimwe C, et al. Highly sensitive detection of malaria parasitemia in a malaria-endemic setting: performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. *J Infect Dis.* 2013;208(4):645–652.
13. Vink JP, Laubscher M, Vlutters R, Silamut K, Maude RJ, Hasan MU, et al. An automatic vision-based malaria diagnosis system. *J Microsc.* 2013;250(3):166–178.
14. Srivastava B, Anvikar AR, Ghosh SK, Mishra N, Kumar N, Houry-Yafin A, et al. Computer-vision-based technology for fast, accurate and cost effective diagnosis of malaria. *Malar J.* 2015;14(1):526.
15. Houry-Yafin A, Eshel Y, Lezmy N, Larbi B. An Enhanced Computer Vision Platform for Clinical Diagnosis of Malaria. *Malaria Contr Elimination. Malar Contr Elimin.* 2016;5(1):5.
16. DIRETRIZES E NORMAS DE CONDUTA PARA O DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA MALÁRIA SIMPLES [Internet]. [citado 26 de Maio de 2019]. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:l7q8HP700G4J:www.adpp-angola.org/pt/component/phocadownload/category/16-portuguese%3Fdownload%3D21:flipchart-clinicas-malaria-a5+%&cd=3&hl=pt-PT&ct=clnk&gl=ao>