

## Estudo sobre o controle de qualidade do diagnóstico parasitológico direto da Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Amapá no período de 2007 a 2011

Kellen Cristina Ignácio Cardoso<sup>1</sup>, Nathalye Dias Martins<sup>1</sup>, Raimundo Nonato Picanço Souto<sup>2</sup>

1. Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá – LACEN/AP, Rua Tancredo Neves, nº 1118, Bairro: São Lázaro, Macapá-AP, Brasil, CEP: 68908-530. E-mail: kellecardoso@yahoo.com.br; nathyedm@gmail.com

2. Universidade Federal do Amapá- Unifap, Rodovia Juscelino Kubisheck, Km 2 – Centro de Ciências Biológicas, Bairro: Universidade, Macapá-AP, Brasil, CEP: 68900-000. E-mail: rnpsoouto@unifap.br

**RESUMO:** A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença endêmica na Região da Amazônia Legal, e mais particularmente no Amapá. Entre as estratégias implantadas pelo Ministério da Saúde para o controle desta doença destaca-se a implantação da Rede de Diagnóstico Laboratorial da LTA. Os laboratórios de cada município devem enviar 100% dos exames realizados para o controle de qualidade do Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá (LACEN-AP). O objetivo deste trabalho foi avaliar qualitativamente o diagnóstico parasitológico direto das lâminas encaminhadas pelos microscopistas dos municípios ao LACEN-AP no período de 2007 a 2011. No total, foram examinadas, pelos técnicos do LACEN, 1.686 lâminas provenientes dos municípios do Oiapoque, Laranjal do Jari, Macapá, Porto Grande, Pedra Branca e Calçoene. Ao comparar as discordâncias de leitura nos exames de LTA entre os microscopistas dos laboratórios municipais e os do LACEN-AP, os resultados mostraram que das 1.686 lâminas analisadas 182 apresentaram discordâncias quanto aos resultados do diagnóstico; quanto a coloração e confecção o conceito regular foi observado respectivamente em 947 e 927 lâminas. A partir dos dados encontrados neste estudo evidenciou-se a necessidade de capacitação para os microscopistas e intensificação das supervisões aos laboratórios dos municípios que realizam o diagnóstico laboratorial para LTA no Estado. Constatou-se também que o controle de qualidade realizado pelo LACEN é extremamente importante para a obtenção de resultados com maior confiabilidade, ampliando-se assim o suporte as ações de vigilância da doença no Estado.

**Palavras-chave:** doença infecciosa, flebotomíneos, vigilância epidemiológica, Amazônia oriental.

### Study about quality control of direct parasitological diagnosis of American Cutaneous Leishmaniasis in the Amapá state in the period of 2007 to 2011

**ABSTRACT:** The American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is an infectious parasitic disease endemic in the Legal Amazon region, and more particularly in Amapá State, Brazil. Among the highlights strategies implemented by the Health Ministry to control the ACL is deployment of the Network of Laboratory Diagnosis of ACL. Each municipal laboratory must have to send 100% of the exams to the Quality Control Department of the Public Health Laboratory of Amapá (LACEN-AP). The aim of this study was to evaluate the quality control of slides sent to LACEN - AP by municipal microscopists in the period of 2007 to 2011. On the whole, 1686 slides were examined by microscopists of LACEN from Oiapoque Laranjal do Jari, Macapá, Porto Grande, Pedra Branca and Calçoene cities, 182 slides were disagrees as diagnosis; as coloring and making of slides, 947 and 927 slides obtained regular concept, respectively. The results of this study revealed the urgency of training to the microscopists and more supervision to the municipal laboratories that performing leishmaniasis diagnosis. The quality control performed by LACEN is extremely important to obtain results of greater reliability, thus extending the support for surveillance of the disease in the state of Amapá.

**Keywords:** infectious disease, sandflies, epidemiological surveillance, eastern Amazon.

### 1. Introdução

A leishmaniose tegumentar é uma doença infecciosa crônica que tem por agentes etiológicos protozoários do gênero *Leishmania* Rossi 1903, sendo uma protozoose que determina lesões cutâneas, simples ou múltiplas e/ou de mucosas, sendo as últimas responsáveis por destruições e/ou mutilações que se traduzem por marcantes fenômenos psicossociais e estigmatizantes nos pacientes. Animais silvestres ou domésticos podem participar do seu ciclo de transmissão, podendo ainda, desenvolver a doença (GONTIJO; CARVALHO, 2003). Os flebotomíneos constituem um grupo de insetos hematófagos, responsáveis pela transmissão das

leishmanioses (SILVEIRA, 2009).

A LTA constitui um problema de saúde pública em 88 países, distribuídos nos quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia) com registro anual de 1 a 2 milhões de casos. É considerada pela OMS como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades (GONTIJO; CARVALHO, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Leishmaniose Tegumentar ocupa o segundo lugar entre as seis doenças infecto-parasitárias mais frequentes no mundo, em decorrência do seu potencial epidêmico (LIMA et al., 2007).

O Estado do Amapá no ano de 2009 registrou um coeficiente de detecção de 81,9 casos por 100.000 habitantes. Os municípios de Laranjal do Jari, Oiapoque e Calçoene representaram 65,1% do total de casos registrados no ano. Do total de casos, 94% ocorreram em maiores de 10 anos e 84% eram do sexo masculino. Evoluíram para a clínica 49,1% e 93,2% foram confirmados laboratorialmente. Dos casos notificados, 17,5% são importados de outros países, sendo que, destes, aproximadamente 96,7% são da Guiana Francesa (BRASIL, 2011).

A Leishmaniose Tegumentar no Amapá apresenta autoctonia em 100% de seus municípios. Os dezesseis municípios que compõem o Estado são considerados endêmicos para LTA, pois, de acordo com o Ministério da Saúde, o registro de pelo menos um caso autóctone de LTA em dez anos é o suficiente para que o município tenha essa classificação (BRASIL/MS/FUNASA, 2002).

Na Região Amazônica a LTA tem ocorrido amplamente em zonas rurais já praticamente desmatadas e em regiões periurbanas. Observa-se a manutenção de casos oriundos de focos antigos ou de áreas próximas a eles, e o aparecimento de surtos epidêmicos associados a fatores decorrentes do surgimento de atividades econômicas como garimpos, expansão de fronteiras agrícolas e extrativismo, em condições ambientais totalmente favoráveis à transmissão da doença (BRASIL, 2006).

A implantação da exploração de minério em alguns municípios do Estado do Amapá provavelmente está relacionada ao aumento do contingente de pessoas em contato com a floresta, o que pode ser um fator de associação ao aumento do número de casos de LTA (CHAVES, 2007).

A partir de 2000, o Ministério da Saúde (MS) posicionou-se no sentido de buscar novas estratégias para o controle da leishmaniose na Amazônia Legal, estabelecendo assim a rede de laboratórios em todos os Estados da região Norte. Devido a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ser um agravo de notificação compulsória, o Ministério da Saúde preconiza que haja confirmação laboratorial para todos os casos. A técnica utilizada na rotina dos municípios é o exame parasitológico direto, que é um teste rápido, fácil e eficaz (BRASIL, 2010).

A leishmaniose tem o seu controle, diagnóstico e tratamento sob a responsabilidade das autoridades municipais. Portanto cabe a cada município estruturar o seu laboratório, realizar os exames e encaminhar as lâminas para o Laboratório de Saúde Pública do Estado do Amapá (LACEN) para o controle de qualidade (BRASIL, 2007).

Esse controle é de fundamental importância para as vigilâncias em saúde por subsidiar de forma eficaz suas ações de investigação, monitoramento e controle dos agravos, bem como para garantir um diagnóstico correto antes de iniciar o tratamento, limitando assim o

consumo de drogas em tratamentos inadequados (BRASIL, 2007).

A utilização de métodos de diagnóstico laboratorial visa não somente a confirmação dos achados clínicos, mas também pode fornecer informações epidemiológicas importantes através da identificação da espécie circulante e orientando quanto as medidas a serem adotadas para o controle do agravo (NEVES et al., 2002).

O diagnóstico laboratorial baseia-se na presença do parasito em provas imunológicas. Para confirmar a presença do parasito é necessária a extração de uma amostra de tecido, que será analisada por procedimentos laboratoriais diversos como análise Histopatológica e Isolamento em Cultura (BRASIL, 2007).

A confirmação do diagnóstico do processo infeccioso é feito quando se encontra o parasita nos tecidos ou fluidos biológicos dos hospedeiros. Portanto recomenda-se o diagnóstico por método parasitológico direto antes do início do tratamento, e em especial naqueles casos com evolução clínica fora do habitual e/ou respostas inadequadas ao tratamento (BRASIL, 2010).

O diagnóstico parasitológico da LTA é feito pela pesquisa direta de amastigotas através dos seguintes procedimentos: escarificação, biópsia com impressão por aposição e punção aspirativa. O diagnóstico baseado na cultura do parasito, para leishmaniose muco cutânea, apresenta baixa sensibilidade, devido à escassez do parasito no tecido (BRASIL, 2000).

O exame microscópico direto é a forma mais simples e rápida de fazer o diagnóstico de leishmaniose. O material pode ser obtido através do raspado das bordas das lesões. Os raspados são feitos após limpeza local com substância antisséptica, a fim de diminuir a contaminação bacteriana, seguido da escarificação da borda da lesão com lâmina estéril, tentando-se evitar o sangramento, e o material obtido é colocado sobre a lâmina de vidro (BRASIL, 2007).

As lâminas são então coradas por Giemsa ou Leishman (que podem ser comprados prontos ou preparados no laboratório). Nas lâminas prontas é possível encontrar as formas amastigotas de *Leishmania*, que são células pequenas, ovóides ou arredondadas, com membranas celulares finas, núcleos relativamente grandes e cinetoplastos em forma de bastões. Essas formas são vistas no interior de histiócitos, assim como no meio extracelular. Os cinetoplastos coram-se em vermelho pelo Giemsa (LOUREIRO et al., 1998).

A Rede Laboratório Estadual de Leishmaniose do Amapá, pautada na Portaria n° 2.606, de 28 de dezembro de 2005 é coordenada pelo LACEN, e por ser um agravo de notificação compulsória, faz parte da Rede Nacional de laboratórios que dão suporte a Vigilância Epidemiológica. Compete ao LACEN nesta rede: coordenar os laboratórios públicos que realizem

o diagnóstico para este agravo; capacitar os recursos humano; habilitar os laboratórios para que possam fazer parte desta rede estadual; disponibilizar ao Ministério da Saúde informações através de relatórios periódicos; realizar o controle de qualidade das análises na rede de laboratórios (BRASIL, 2005).

O diagnóstico precoce seguido do tratamento imediato e efetivo são elementos básicos para o controle da leishmaniose. Entretanto, um tratamento adequado se fundamenta necessariamente na existência de um sistema que ofereça acesso a um diagnóstico confiável. Erros no diagnóstico podem trazer consequências aos pacientes, desde um aumento da gravidade da doença e até mesmo óbito, além de ter implicações epidemiológicas devido a manutenção de indivíduos tratados ou não erradamente como fontes de infecção para o inseto vetor (BRASIL/MS/FUNASA, 2002).

A pesquisa direta do parasita da leishmaniose no microscópio é a prática laboratorial mais comum em quase todos os municípios do Amapá visto que se constitui em um método simples, de baixo custo e eficaz. A qualidade do resultado do exame microscópico está associada a competência dos microscopistas, além de fatores como a qualidade dos insumos, preparo e coloração das lâminas, manutenção adequada dos microscópios e sobrecarga de trabalho (BRASIL, 2010).

Embora nas últimas décadas tenha ocorrido avanço nas técnicas para diagnóstico da leishmaniose, o exame parasitológico direto permanece como um dos mais rápido e simples método utilizado para confirmar o diagnóstico clínico da doença (BRASIL, 2007).

O Controle de qualidade analítica é um dos requisitos técnicos das normas que estabelecem a competência dos laboratórios, a Secretaria de Vigilância em Saúde /Ministério da Saúde (SVS/MS) pela portaria nº 70/ SVS/MS/2004. Segundo as recomendações do Ministério da Saúde os microscopistas de base de cada município devem encaminhar 100% das lâminas examinadas positivas e negativas (BRASIL, 2004).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade do diagnóstico parasitológico direto da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado do Amapá através da análise dos dados do controle de qualidade das lâminas encaminhadas ao Laboratório de Referência do Estado do Amapá (LACEN-AP), no período de 2007 a 2011.

## 2. Material e Métodos

O estado do Amapá faz parte da região Amazônica, está localizado no extremo norte do Brasil. A linha do Equador passa ao sul do Estado, na cidade de Macapá, e é a única cidade brasileira cortada pela linha imaginária do equador. O Estado é banhado pelo oceano Atlântico e pelo rio Amazonas, maior rio do mundo. Segundo o último censo do Instituto Brasileiro de

Geografia e Estatística (IBGE) em 2010 o estado do Amapá possui uma população total de 648.553 habitantes, distribuídos em 16 municípios, sendo que mais de 50% desta população está concentrada na capital do estado Macapá. O Amapá é o único Estado da Federação que possui uma fronteira com território de dominação europeia, Guiana Francesa. Faz também fronteira com um país da América do Sul, o Suriname (MORAIS, 2011).

Para a realização deste estudo foram utilizados os registros com os resultados do controle de qualidade das lâminas de Leishmaniose Tegumentar Americana encaminhados ao LACEN- AP no período de 2007 a 2011.

A coleta de dados ocorreu a partir da leitura dos registros dos resultados dos exames realizados pelos técnicos do controle de qualidade do LACEN no período de outubro de 2011 a janeiro de 2012.

O controle de qualidade das lâminas recebidas pelo LACEN é feito através da avaliação de três fatores: coloração da lâmina, confecção da lâmina e concordância ou divergência dos resultados. Posteriormente são expedidos laudos com os resultados das análises de volta aos laboratórios de base e aos coordenadores de endemias de cada município.

Para que uma lâmina seja considerada com coloração boa precisa ter: boa visualização do parasito com a sua cromatina corada em vermelho e o citoplasma em azul; boa visualização das estruturas parasitárias; lâmina com coloração variando de cinza-claro a rosa pálido e ausência de artefatos.

Quanto a confecção da lâmina, para que obtenha o conceito Bom, é necessário ter: *imprint* uniforme; sem atingir as bordas da lâmina; *imprint* em camada fina e delgada; hemácias e leucócitos ausentes ou raros.

Para a confecção das lâminas, o raspado deve ser feito da borda interna da úlcera ou da lesão fechada para que se encontre um número significativo de parasitos. Quando há dificuldade de encontrar os parasitos esse fato pode ser um indicativo que a coleta não foi bem realizada. Verifica-se também o acondicionamento das lâminas (BRASIL, 2010). Para a análise da concordância ou divergência do resultado do diagnóstico o critério utilizado é a presença do parasito na lâmina.

Cada parâmetro depois de avaliado segundo os itens relacionados acima, recebem os conceitos bom, regular ou ruim para cada lâmina. Todas as lâminas são identificadas com uma numeração de acordo com os seus municípios e suas avaliações são registradas em formulário próprio do setor de qualidade para facilitar posteriormente a confecção do relatório de análise.

Os dados foram analisados através de estatística descritiva, estimando-se as médias e as frequências relativas das variáveis controle de qualidade das lâminas encaminhadas ao LACEN e o número de

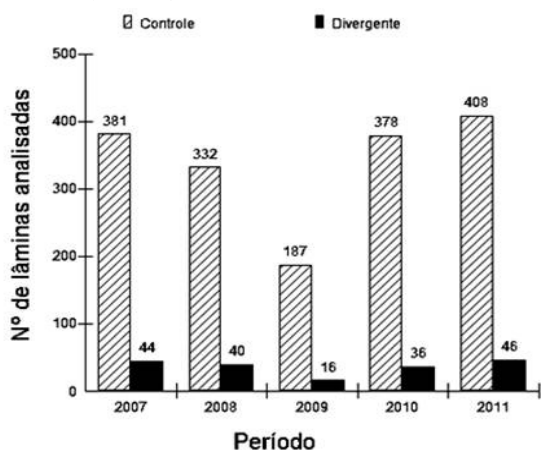
divergências de cada município, utilizando-se o programa Bioestatic 5.0 (AYRES, 2007).

Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) para obtenção do certificado de isenção, haja vista, esta pesquisa não envolver diretamente seres humanos apenas análise dos dados referentes aos diagnósticos laboratoriais de leishmaniose do controle de qualidade de endemias do Lacen.

### 3. Resultados e Discussão

No total, foram examinadas pelo setor de controle de qualidade do Lacen-AP 1.686 lâminas provenientes dos municípios do Oiapoque, Laranjal do Jari, Macapá, Centro de Referências em Doenças Tropicais (CRDT), Porto Grande, Pedra Branca e Calçoene.

Quanto às discordâncias de leituras nos exames de LTA detectadas entre os microscopistas dos laboratórios de base e os microscopistas do controle de qualidade do LACEN, os resultados mostraram que do total de 1.686 lâminas analisadas pelo controle de qualidade, 182 (10,79%) apresentaram discordâncias com os resultados encontrados pelos microscopistas dos laboratórios dos municípios, o que equivale ao dobro da porcentagem aceita e recomendada pelo Ministério da Saúde (Figura 1).

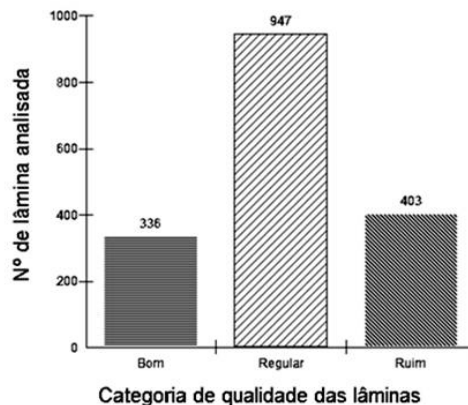


**Figura 1.** Demonstração da relação do número de lâminas analisadas pelo controle de qualidade do LACEN pelo número de lâminas com resultados divergentes.

Durante as supervisões do Lacen aos laboratórios dos municípios, observou-se que um dos fatores prováveis para este percentual de divergências é a alta rotatividade dos microscopistas, pois a maioria possui contrato temporário. O LACEN capacita o técnico para o diagnóstico num ano, porém no outro ou até em um intervalo de tempo menor o mesmo já não está mais trabalhando no local.

O ano que ocorreu maior percentual de divergência foi o de 2008 com uma média de 12,16%, e o ano que menor ocorreram divergências foi o de 2010 com média de 9,52%. Não houve diferença estatística significativa no número de divergências encontradas entre os anos estudados.

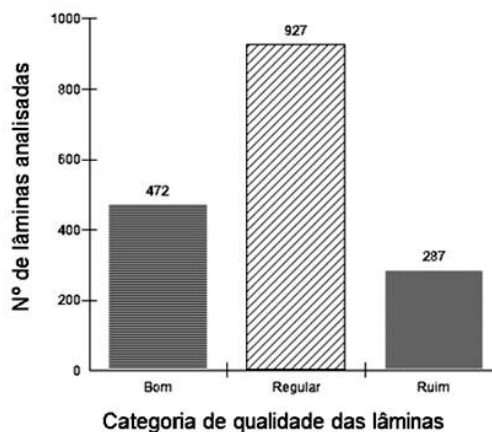
Quanto aos resultados do controle de qualidade dos parâmetros coloração e confecção das lâminas recebidas pelo LACEN observou-se que do total de 1.686 lâminas analisadas entre 2007 e 2011, quanto a coloração: 336 (19,93%), apresentaram conceito bom; 947 (56,17%), conceito regular e 403 (23,9%), ruim (Figura 2).



**Figura 2.** Demonstração do resultado do controle de qualidade das lâminas quanto ao parâmetro de coloração.

Os resultados quanto ao controle de qualidade na coloração das lâminas demonstrou um número representativo de lâminas com conceito ruim, portanto com condições mínimas de visualização da presença ou não do parasito podendo levar a erros nos diagnósticos. Para tanto se faz necessário mais atenção por parte dos laboratoristas quanto a qualidade dos reagentes (armazenamento, tempo de uso e validade) assim como quanto a técnica utilizada na coloração como por exemplo, o tempo de coloração (BRASIL, 2007).

Quanto ao parâmetro confecção, observou-se que do total de 1.686 lâminas examinadas, 472 (28%) obtiveram conceito bom; 927 (54,98%), o conceito regular e 287 (17,02%), ruim (Figura 3). Os resultados demonstraram a necessidade de maior preocupação quanto as técnicas de coleta, para que seja feita de forma a se ter o menor sangramento possível das úlceras e conseqüentemente melhor visualização dos parasitos (BRASIL, 2010).



**Figura 3.** Demonstração do resultado do controle de qualidade das lâminas quanto ao parâmetro confecção da lâmina.

#### 4. Conclusão

No Amapá, a oferta de diagnóstico imediato e tratamento oportuno e correto da LTA têm melhorado significativamente ao longo dos anos. Porém este estudo evidenciou que a porcentagem de lâminas divergentes analisadas pelo controle de qualidade do Lacen foi 10,79%, sendo o dobro do recomendado pelo Ministério da Saúde. O ano de 2008 foi o que apresentou maior divergência (12,16%). Observou-se também que os resultados do controle de qualidade para coloração e confecção teve um número significativo de lâminas com conceito ruim (23,9 % e 17,02%, respectivamente).

Esses resultados sugerem a necessidade da realização de um maior número de capacitações e supervisões técnicas para acompanhamento do desempenho dos microscopistas que realizam o diagnóstico laboratorial de leishmaniose. Além disso, é necessária a sensibilização da gestão local para que esforços sejam somados no sentido de aprimoramento da infraestrutura dos serviços de diagnóstico laboratorial da LTA, na constituição de quadro pessoal qualificado e estável, na implementação de um sistema de gestão de qualidade para o exame da doença assegurando melhoria nos procedimentos técnicos de coleta, coloração e leitura de lâminas e suporte logístico que proporcione um abastecimento adequado de reagentes, lâminas, microscópios e outros materiais essenciais ao diagnóstico da LTA, para que os resultados sejam precisos e liberados o mais rápido possível.

#### 5. Referências Bibliográficas

- AYRES, M. Bioestat 5.0. Sociedade Civil Mamirauá /MCT /CNPQ. Imprensa Oficial do Estado do Pará, Belém, Brasil, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2000.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Portaria nº 70, de 23 de dezembro de 2004. Estabelece os critérios e a sistemática para habilitação de Laboratórios de Referência Nacionais e Regional para as Redes Nacionais de Laboratórios de Vigilância Epidemiológica e Ambiental em saúde. 2004. Disponível em : [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria\\_n\\_70\\_2004.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_n_70_2004.pdf) > Acesso em: 12/12/2011.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.606, de 28 de dezembro de 2005. Classifica os Laboratórios Centrais de Saúde Pública e institui seu fator de incentivo. 2005. Disponível em : <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/GM/GM-2606.htm> > Acesso em: 29/11/2011.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Portaria nº 5, de 21 de fevereiro de 2006. Inclui doenças na relação nacional de notificação compulsória, define doenças de notificação imediata, relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos Laboratórios de Referência Nacional ou Regional e normas para notificação de casos. 2006. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/saudelegis.../svs/2006/prt00>

05\_21\_02\_2006.html. Acesso em: 19/01/2012.

- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2007.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Situação do Amapá**. Relatório. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011.
- CHAVES, R. C. G. **Estudo Epidemiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Estado do Amapá Estratificado em Regiões de Risco no Período de 2002 a 2006**. (Dissertação de Mestrado). Belém: Universidade Federal do Pará, 2007.
- GONTIJO, B.; CARVALHO, M. R. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, p.71-80, 2003.
- LIMA, E. B.; PORTO, C.; MOTTA, J. O. C. Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista Brasileira de Dermatologia**, n. 82, p. 111-114, 2007.
- LOUREIRO, C. C. P.; DADALTI, P.; GUTIERREZ, M. C. G. Leishmaniose: métodos e diagnósticos. **Folha Médica**, v. 117, p. 131-134, 1998.
- MORAIS, P. D. **Geografia do Amapá**. Macapá: Gráfica, 2011. p. 09-12.
- NEVES, V. L. F. C.; GOMES, A. C.; ANTUNES, J. F. Correlação da presença de espécies de flebotomíneos com registros de casos da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p.299-306. 2002.
- SILVEIRA, A. F. Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) na Amazônia, Brasil: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 79, p. 25-29, 2009.