

CLÁUDIA ÁLVARES CALVO ALESSI

**Leishmaniose cutânea americana no Pontal do
Paranapanema - SP: avaliação clínica, histopatológica e
uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) para
identificação e caracterização das espécies de
*Leishmania***

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração: Patologia
Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo
Pereira Corbett

São Paulo

2007

A Deus, que permite tão grandes
coisas em minha vida!

“Ando devagar porque já tive pressa
e levo esse sorriso, porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe
eu só levo a certeza de que muito pouco eu sei, eu nada sei

Conhecer as manhãs e as manhãs,
o sabor das massas e das maçãs,
é preciso amor pra poder pulsar,
é preciso paz pra poder sorrir,
é preciso a chuva para florir...

...Penso que cumprir a vida seja simplesmente
compreender a marcha, e ir tocando em frente...

Um dia a gente chega, no outro vai embora
Cada um de nós compõe a sua história,
e cada ser em si, carrega o dom de ser capaz,
e ser feliz.”

(Almir Sater)

Aos meus pais, Cândia e Irineu Calvo,
cujo amor, estímulo e valores sempre me guiarão.

Obrigada pelo apoio incondicional.

Ao meu marido, Haroldo César, e aos meus filhos,

Angélica e Henrique César, que aceitaram

pacientemente

a inconveniência e a separação associada à minha

preocupação com este trabalho.

Obrigada pela compreensão aos vários momentos não partilhados.

AGRADECIMENTOS

Ao iniciar os agradecimentos, lembrei de um pensamento de Platão, que diz: “Grandes Caminhadas começam com a decisão do primeiro passo”. Esta pequena frase reflete o momento que estou vivendo atualmente. Foram tantas idas e vindas; de carro, convencional, leito, avião... foram tantos erros, acertos, noites mal dormidas, tentativas, alegrias...lágrimas... tudo isso me levou a conhecer mundos e pessoas, que jamais teria conhecido se não tivesse tido a coragem de dar o primeiro passo. Portanto, gostaria de agradecer ao Professor Dr. Carlos Eduardo Pereira Corbett pela orientação, apoio constante e compreensão silenciosa dos momentos difíceis pelos quais passei. A sua disponibilidade irrestrita, sua forma exigente, crítica e criativa de argüir as idéias apresentadas, muito contribuíram para nortear este trabalho.

À professora Dra. Lucile Maria Floeter-Winter que me acolheu em seu laboratório, dando-me tranquilidade e credibilidade no desenvolvimento desta tese.

À Unoeste (Universidade do Oeste Paulista), em especial ao Prof. Jerson Belaz e à Profa. Ana Maia de Oliveira Lima, pela oportunidade e apoio recebido.

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de aprendizagem e crescimento científico.

Ao colega Dr. Tiago Moreno Castilho, pela compreensão, supervisão e auxílio na execução das técnicas moleculares, sempre esclarecendo minhas dúvidas.

Ao Dr. Antônio Plácido Pereira, um grande e experiente patologista da região, que colocou seu laboratório à disposição para a execução de técnicas de imunohistoquímica e HE, além de ceder as biópsias para a realização da PCR. Meu muito obrigada.

À Dra. Sandra Maria Mortari Lotfi, do Centro de Vigilância Epidemiológica de Presidente Prudente, que pacientemente forneceu os casos notificados no Pontal do Paranapanema.

À Dra. Elisa San Martin Mouriz Savani pela troca de idéias e colaboração neste trabalho. Obrigada por sempre ter uma palavra amiga de incentivo e apoio.

À Dalila Certo, pela correção e formatação desta tese. Obrigada pela paciência.

À Lia Negrão e Zenaide Forçan, sempre prestativas, “atentas” a tudo que dizia respeito ao trabalho e principalmente, sempre bem humoradas, aliviando assim, a saudades que sentia dos filhos. Foram poucos, mas inesquecíveis nossos ‘passeios’ de família.

Ao Luiz Felipe Domingues Passero, pela simpatia e pela colaboração nas fotos.

A minha querida irmã, Luciana Calvo Penha, que tem sido ao longo de todos esses anos, minha maior amiga. Sua presença singela, nobreza de alma e generosidade incomparável, faz o dia melhorar cada vez que nos encontramos.

Ao meu irmão, Emanuel Alvares Calvo, pelo apoio e incentivo nessa caminhada.

A Flávia Noris Chagas Leli, Selma Zambeli de Freitas e Nádia de Araújo Miguel, que sem nunca questionarem, sempre facilitaram minhas idas à São Paulo.

A profa. Coordenadora Maria Inês dos Santos Balarim e sua equipe - Péricles Zevizier Nunes e Andréa Aparecida T. Tavares Martinez, pelas várias mudanças nos horários das minhas aulas, em função das viagens. Obrigada pela compreensão.

Ao prof. Emerson Wruck, que sempre se fez compreender, mesmo estando tão distante fisicamente. Obrigada pela análise estatística.

Ao Ediléu H. Cardoso Júnior, pela amizade que surgiu no mestrado e ainda permanece. Obrigada por sempre me atender prontamente, embora cheio de compromissos com a Faculdade de São Carlos.

A Dra. Maria Aparecida da Silva e Dra. Nair Toshiko Tashima por terem sentido todas as dificuldades de se fazer pós-graduação em outra cidade, e por isso, sempre me apoiarem. Obrigada.

A querida Carla Fitipaldi Philadelphi Jatene, que sempre levou e buscou meus filhos nas escolas nos dias que estava ausente. Obrigada por ter me ajudado por tanto tempo.

Aos meus sogros Haroldo Angelo Alessi e Maria Darcy Krasuscki Alessi, que souberam ser pacientes e carinhosos com meus filhos. Obrigada pelos momentos agradáveis em família.

Aos meus acadêmicos da Unoeste, em especial a Natieli do Nascimento, Elyanne Gomes, José Hercules Dantas Ribeiro e Ricardo da Silva, que de várias maneiras estimularam a realização desta pesquisa.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação;

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina, Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo.

Summary

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Aspectos gerais	2
1.2 Distribuição Geográfica e Antecedentes Históricos da Leishmaniose Tegumentar Americana	5
1.3 Aspectos Clínicos e Histopatológicos da LCA	8
1.4 Diagnóstico das Leishmanioses	11
1.4.1 Pesquisa direta	12
1.4.2 Cultivo “in vitro”	13
1.4.3 Inoculação em “hamster”	13
1.4.4 Sorologia por imunofluorescência, Elisa ou aglutinação direta	14
1.4.5 Intradermorreação de Montenegro (IDRM)	15
1.4.6 Biópsia: histopatologia e imunohistoquímica	16
1.4.7 PCR	18
2. AS LEISHMANIOSES NO ESTADO DE SÃO PAULO COM ÊNFASE NO PONTAL DO PARANAPANEMA E O MST	22
3. OBJETIVOS	31
3.1 Geral	31

3.2	Específico	31
4.	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	Descrição da Área de Estudo	33
4.1.1	Aspectos Gerais	33
4.1.1.1	Geomorfologia	33
4.1.1.2	Economia	35
4.1.1.3	Movimentos Sociais no Pontal do Paranapanema	35
4.1.2	Características Locais	37
4.2	Inquérito Humano	39
4.2.1	População Estudada	39
4.3	Metodologia dos Exames de Laboratório	40
4.3.1	Identificação do Parasita nas Lâminas coradas pela HE	40
4.3.2	Identificação do Parasita pela Imunohistoquímica	41
4.3.3	Controles	43
4.3.4	Identificação do Parasita através da reação em cadeia da polimerase	43
4.3.4.1	Extração de DNA em blocos de parafina	43
4.3.4.2	Reação em cadeia da polimerase (PCR)	45
	A. Sequência alvo DNA ribossômico (rDNA)	45
	B. Sequência alvo: gene G6PD	47
4.3.4.3	Eletroforese em gel de agarose	48
4.3.4.4	Purificação de produtos da PCR	49
4.3.4.5	Seqüenciamento de DNA	50
4.3.4.6	Análise dos resultados	52

5. RESULTADOS	54
5.1 Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose cutânea no Pontal do Paranapanema	54
5.2 Aspectos clínicos e histopatológicos dos casos de Leishmaniose Cutânea Americana no Pontal do Paranapanema	57
5.3 Diagnóstico parasitológico da Leishmaniose Cutânea no Pontal do Paranapanema	65
5.3.1 Exames parasitológicos: parasitas nas lesões pela histopatologi. HE	65
5.3.1.1 Identificação do Parasita pela histotopatologia, HE	66
5.3.1.2 Identificação do Parasita através da reação de Imunohistoquímica (IH)	69
5.3.1.3 Identificação e classificação dos parasitas por métodos moleculares, PCR	74
5.3.1.4 Avaliação da taxa de concordância entre HE e PCR..	80
5.3.1.5 Avaliação da taxa entre IH e PCR	82
6. DISCUSSÃO	87
7. CONCLUSÕES	99
8. ANEXOS	101
9. REFERÊNCIAS	112

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

