



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UNICEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BIOMEDICINA

MELLODY ÉVADNI CHEROLYNE SILVEIRA DE CARVALHO FERREIRA

**MENINGOENCEFALITES INFECCIOSAS CAUSADAS POR AMEBAS DE VIDA
LIVRE: *NAEGLERIA FOWLERI*, *BALAMUTHIA MANDRILLARIS* E
*ACANTHAMOEBA SPP.***

Trabalho de conclusão de curso apresentado em forma de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob orientação da Professora Doutora Maria Creuza do Espírito Santo Barros Ferreira.

BRASÍLIA

2019

Dedico este trabalho a Deus o grande compositor do Universo, aos meus pais e familiares por estarem comigo nesta caminhada e aos professores e profissionais do UNICEUB que acreditam na vocação de educar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e, como criador, confiar aos Biomédicos condições para estudar e entender esta criação infinita e momentaneamente incompreendida.

MENINGOENCEFALITES INFECCIOSAS CAUSADAS POR AMEBAS DE VIDA LIVRE: *NAEGLERIA FOWLERI*, *BALAMUTHIA* E *ACANTHAMOEBA SPP.*

Mellody Évadni Cherolyne Silveira de Carvalho Ferreira¹

Maria Creuza do Espírito Santo Barros Ferreira²

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo analisar através da releitura de artigos publicados no PubMed, SciELO e GOOGLE Acadêmico os aspectos principais das amebas de vida-livre (AVL) e as consequências trazidas pelos erros de diagnósticos. Existem poucos estudos nesta área e a grande maioria deles não estão traduzidos para a língua portuguesa. Os órgãos de saúde no Brasil não têm estatísticas destas doenças e informações sobre normas e procedimentos para melhor diagnóstico. As AVL são responsáveis por infecções fatais causadoras de microencefalite e geralmente a identificação ocorre somente após a morte do paciente. Três gêneros são conhecidos por infectar seres humanos e animais, são eles *Naegleria fowleri*, *Balamuthia* e *Acanthamoeba spp.* que são encontradas em rios, lagos e piscinas e alimentam-se de bactérias, fungos e pequenas partículas orgânicas tendo como meio de entrada nos seres humanos a mucosa nasal.

Palavras-chave: *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba spp.*, Amebas de vida-livre, encefalite, meningite, meningoencefalite, protozoário.

INFECTIOUS MENINGOENCEFALITES CAUSED BY FREE LIFE AMEBAS: *NAEGLERIA FOWLERI*, *BALAMUTHIA* AND *ACANTHAMOEBA SPP.*

ABSTRACT

This work aims to analyze the main aspects of the free-living amoebae (AVL) and the consequences brought by the errors of diagnosis through the re-reading of articles published in PubMed, SciELO and GOOGLE Academic. There are few studies in this area and the vast majority of them are not translated into portuguese. Health agencies in Brazil do not have statistics on these diseases and information on standards and procedures for better diagnosis. AVL are responsible for fatal infections that cause micro-encephalitis and usually the identification occurs only after the death of the patient. Three genera are known to infect humans and animals, are *Naegleria fowleri*, *Balamuthia* and *Acanthamoeba spp.* which are found in rivers, lakes and pools and feed on bacteria, fungi and small organic particles having as a means of entry into beings the nasal mucosa.

Key word: *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba spp.*, Life-free amoebas, encephalitis, meningitis, meningoencephalitis, protozoan.

¹Acadêmica do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

²Professora do curso de Biomedicina Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. Introdução

O número limitado de materiais relativo à contaminação provocada pelas Amebas de Vida Livre (AVL) é um fator relevante no diagnóstico do tipo de meningite e, identificar de forma precisa o agente causador da meningite é fator determinante para a cura efetiva da doença (VISVESVARA et al., 2007). Esta carência de documentação na língua portuguesa e também em outras línguas remete a necessidade de estudos relativos a estas AVL.

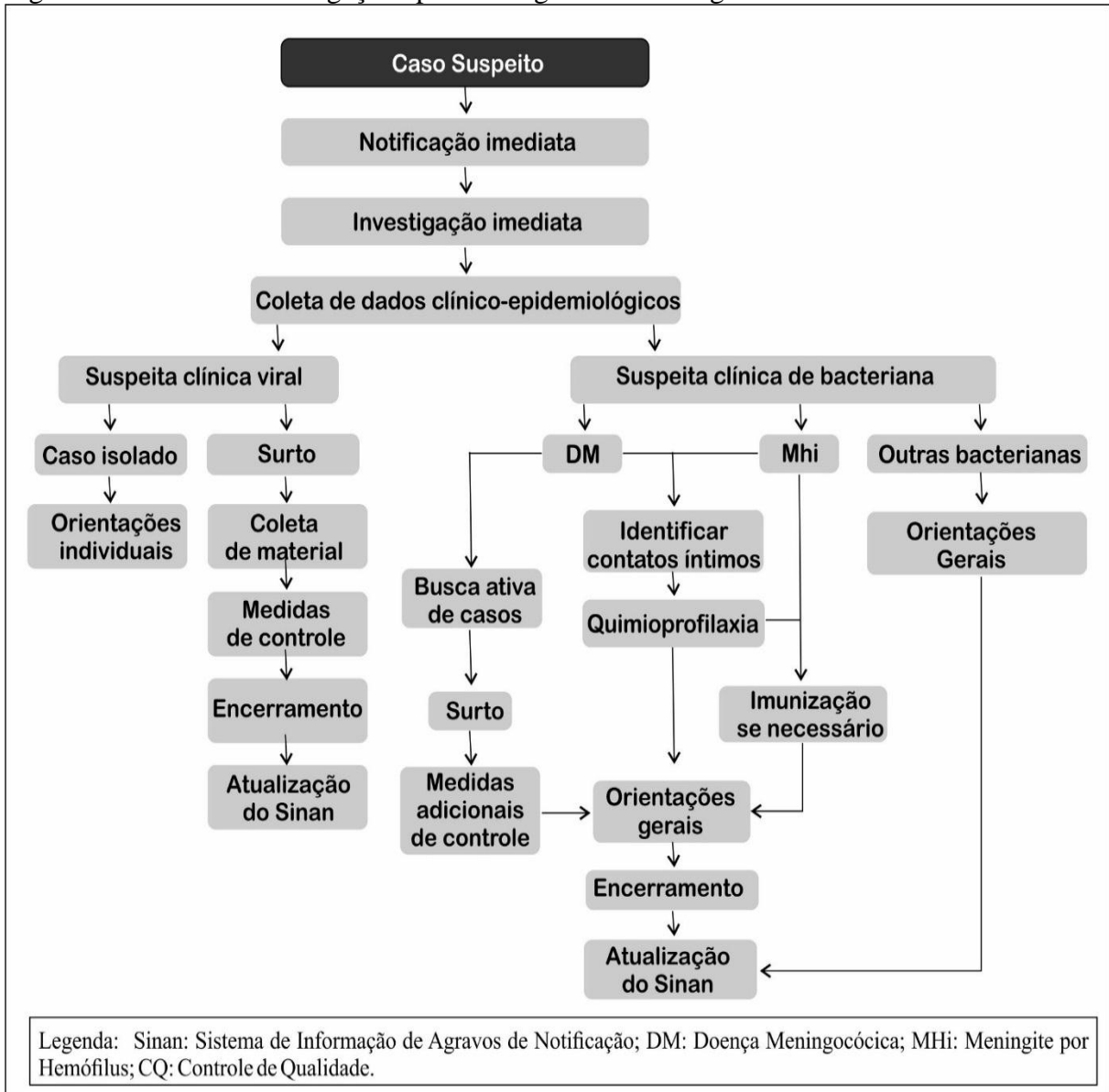
Através da releitura dos artigos poderemos observar que as meningites e encefalites podem ser causadas por um grande número de agentes e ter curso variável. Encefalites e meningites caracterizam-se pela alteração funcional do sistema nervoso central com sintomas como alterações do nível de consciência; alterações cognitivas tais como mudança de comportamento ou de personalidade; distúrbios no movimento ou na fala; déficits motores ou sensitivos. As crises convulsivas podem ocorrer nas meningites e não são critérios definitivos para a presença de encefalite. Apesar dessa diferenciação teórica, as apresentações clínicas são frequentemente mistas, sendo assim muito utilizado o termo meningoencefalite (VANDERLINDE, 2014).

A meningite pode ser causada por diversos agentes infecciosos, como bactérias, vírus, fungos e protozoários além de agentes não infecciosos como traumatismo. As meningites de origem infecciosa são as mais importantes do ponto de vista da saúde pública, pela magnitude de sua ocorrência e potencial de produzir surtos (BRASIL, 2005).

O difícil diagnóstico das meningites por protozoários tem trazido pouca documentação e conseqüentemente a falta de notificação pelos órgãos de saúde pública. Como podemos visualizar na figura 1 não existe sequer um protocolo para detecção da meningite por protozoários.

No Guia de vigilância em saúde (BRASIL, 2017), existem citações e procedimentos detalhados sobre meningite por vírus e bactérias, mas as meningites por protozoários são descrito apenas como “Meningite por outras etiologias” e os protozoários como a *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba spp.* e *Balamuthia mandrillaris* não são citadas neste guia e em nenhuma documentação oficial dos órgãos de saúde.

Figura 1: Roteiro de investigação epidemiológica das meningites.



Fonte: Brasil, 2005.

Segundo Thomé (2014) uma forma de meningite transmitida por parasitas está se espalhando pelo país. O autor demonstra que existe uma preocupação dos pesquisadores em alertar os profissionais de saúde sobre meningoencefalite provocadas por protozoários. Ainda citando a publicação o médico Carlos Graeff-Teixeira, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, explica: "Os médicos não estão atentos a essa forma da doença, mais por falha de educação e de treinamento. Eles querem saber se a meningite é viral ou bacteriana e não prestam atenção aos outros agentes". As bactérias, vírus, fungos e helmintos são responsáveis por vários casos de meningoencefalite (MIRANDA, 1997), mas é necessária a atenção também para outros agentes como os protozoários.

Segundo Brett (2017), a encefalite traduz uma inflamação do encéfalo, que quando associada à meningite surge o termo meningoencefalite. O diagnóstico precoce é fundamental para reduzir a probabilidade de sequelas graves. A encefalite é uma disfunção aguda do Sistema Nervoso Central que possuem evidências imagiológicas e/ou laboratoriais de inflamação cerebral, que podem ou não estar associada à meningite.

A meningite é uma síndrome caracterizada por febre, cefaleia intensa, vômitos e sinais de irritação meníngea, acompanhadas de alterações do líquido cefalorraquidiano, (BRASIL, 2005). Em geral os sintomas das meningoencefalite por bactéria, fungos, protozoários ou vírus seguem os mesmos sintomas, a diferença entre elas podem estar em algumas características muitas vezes sensíveis a percepção no diagnóstico. Segundo o Guia de Vigilância Epidemiológica, o quadro clínico das meningites virais é semelhante às demais meningites agudas diferenciando no exame físico que chama atenção pelo bom estado geral associado à presença de sinais de irritação meníngea.

Os sintomas da meningite eosinofílica são semelhantes aos das outras: dor de cabeça persistente, febre alta e, menos frequentemente, rigidez na nuca. O que permite diferenciar é o exame do líquido, líquido entre as meninges, extraído por punção lombar. "O aumento de eosinófilos, que são células de defesa do organismo, é típico de infecção por parasita e verme." Graeff-Teixeira explica que o verme não se desenvolve no organismo humano e o tratamento é com corticoides para reduzir a reação inflamatória. O tratamento ameniza os sintomas e evita o agravamento da doença, que pode deixar sequelas como disfunção nos movimentos de braços e pernas, redução ou perda da visão e audição (THOMÉ, 2014).

Os sinais e sintomas podem ser parecidos nos diferentes tipos de contaminação com algumas peculiaridades referentes a cada patologia. Em geral a pessoa com meningoencefalite podem ter rigidez da nuca, febre acompanhada por náuseas, vômitos, diarreia, mialgias, também ocorrendo cefaleias (BRETT, 2017).

As meningites virais e bacterianas em geral são transmitidas de pessoa a pessoa, através das vias respiratórias, por gotículas e secreções da nasofaringe, havendo necessidade de contato íntimo (residentes na mesma casa, colega de dormitório ou alojamento, namorado) ou contato direto com as secreções respiratórias do paciente. A transmissão fecal-oral é de grande importância em infecções por enterovírus. A meningite tuberculosa é uma complicação da infecção tuberculosa. Os casos de tuberculose pulmonar com escarro positivo à baciloscopia constituem a principal fonte de infecção, pois eliminam grande número de

bacilos, podendo provocar uma infecção maciça dos contatos, com maior probabilidade de desenvolvimento de formas graves da doença, como a meningite (BRASIL, 2005).

As meningites parasitárias são transmitidas via trato olfatório, através da penetração do microrganismo pela lâmina cribiforme, essa lâmina forma parte do assoalho da fossa anterior do crânio, na parte mediana e parte do teto da cavidade nasal, resultando em infecção direta do encéfalo, a qual determina manifestações de meningoencefalite aguda (BATISTA, 2007).

As meningites não infecciosas podem ser causadas por medicamentos, vacinas, doenças não infecciosas e até mesmo por traumatismo craniano. Cefaleia, febre, rigidez na nuca são alguns sintomas das meningites não infecciosas podendo ser confundida com outros tipos de meningite fazendo necessário um diagnóstico mais completo, a gravidade e acuidade podem variar, mas esta tende a ser menos grave do que as meningites bacterianas (GREENLEE, 2019).

O objetivo deste trabalho foi analisar através da releitura de diversos artigos o grau de contaminação que as AVL possuem e por consequência a necessidade de laudos mais detalhados e roteiros de investigação mais precisos. As AVL podem ser encontradas na água e no solo como as amebas *Naegleria*, *Acanthamoeba* e do gênero *Balamuthia*, que se encontram amplamente distribuídas na natureza (VISVESVARA et al., 2007).

2. Metodologia / Materiais e Métodos

O trabalho foi realizado por meio de uma revisão narrativa da literatura. Segundo Rother (2007) a revisão narrativa é aquela que é apropriada para descrever e discutir o desenvolvimento de um determinado assunto, sob o ponto de vista teórico ou contextual. Constituem, basicamente, de análise de literatura publicada em livros, artigos de revistas impressas e/ou eletrônicas na interpretação e análise crítica pessoal do autor.

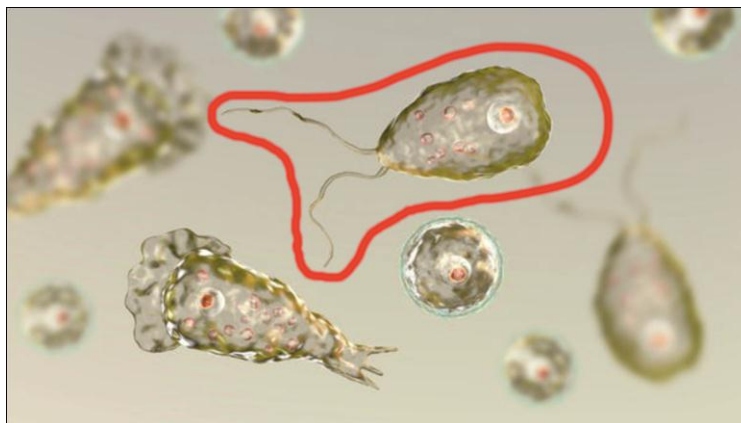
Para levantamento das informações serão consultadas as bases de dados Google Acadêmico, Scielo e PubMed, e para essa pesquisa foram utilizadas as palavras chave “*Naegleria fowleri*”, “*Balamuthia mandrillaris*”, “*Acanthamoeba spp.*”, “meningoencefalite”, “epidemiologia”, “infecções parasitárias”, “ocorrência”, “rios”, “lagos”, “ameba comedora de cérebros”, “diagnóstico” e “tratamento” buscando artigos publicados nos últimos 10 anos, bem como trabalhos importantes sobre o tema publicados anteriormente a esse período, tanto no idioma português como no inglês e no espanhol.

3. Desenvolvimento

3.1. *Naegleria fowleri*

Também conhecida de forma popular “ameba comedora de cérebros”, *Naegleria fowleri* (figura 2) é uma ameba de vida livre eucariótica (COPE et al., 2018), do gênero Percolozoa. Superfilo discoba, filo/classe heterolobosea (percolozoa), gênero *Naegleria* *Ascrasis* (GRACCIA et al., 2018).

Figura 2: Forma flagelada do *Naegleria fowleri*.



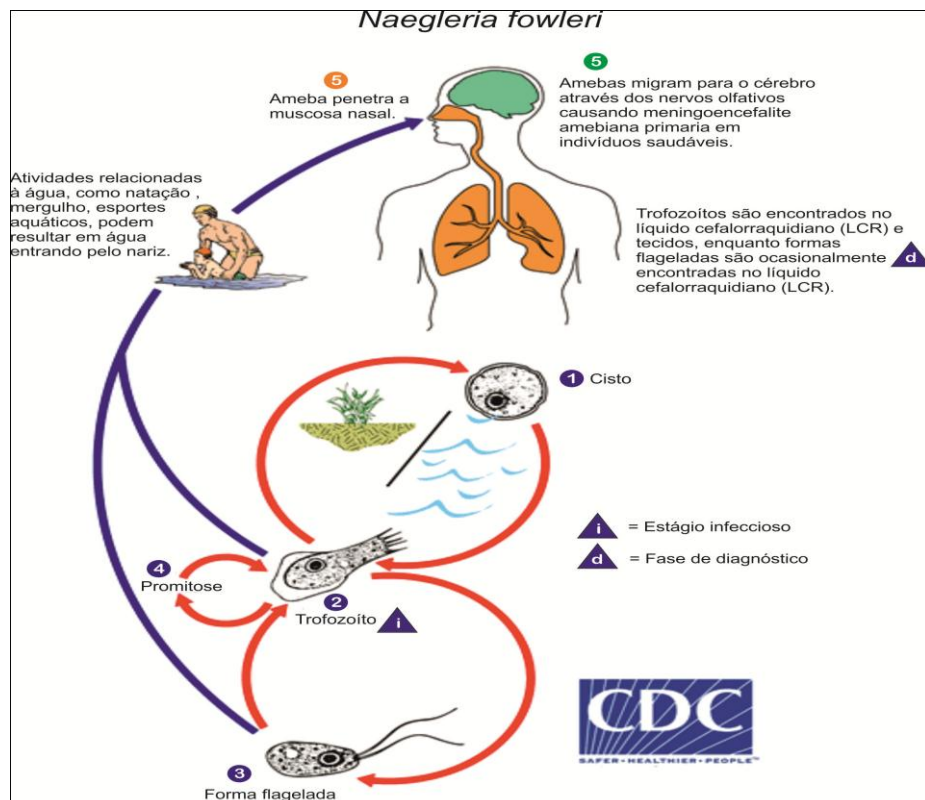
Fonte: katerynakon, 2017.

A classificação dos protozoários é muito complexa e tem mudado muito na última década. Antigamente os *Protozoários ameboides* eram tratados dentro do filo sarcodina (rizópodes). Adl (2005) classifica as AVL em seis grupos ou supergrupos chamados de Amebozoa, Opisthokonta, Rhizaria, Archaeplastida, Chromoalveolata e Excavata. A *Naegleria fowleri* foi incluída no grupo Excavata (Heterolobosia – subdivisão: Vahlkampfiidae), de acordo com o sistema criado pela Sociedade Internacional de Protistologistas. Apesar do gênero *Naegleria* ser composto por mais de 40 espécies apenas a *Naegleria fowleri* é capaz de infectar seres humanos. Esta capacidade de infecção para Bellini (2015) acontece devido à selenocisteína que são incorporadas nas selenoproteínas na sua cadeia de aminoácidos que em sua maioria são responsáveis por suas funções catalíticas. A presença desse aminoácido pode auxiliá-la na sobrevivência em circunstâncias específicas e isso possibilita que ela use selenoproteínas para se defender dentro de um ambiente desfavorável. No ciclo biológico a *N. fowleri* apresenta uma fase que se diferencia das outras

em uma forma flagelada (estágio em que se divide e se alimenta) também conhecida como amebo-flagelado (VISVESVARA; MAGUIRE, 2006).

A *Naegleria fowleri* geralmente é encontrada em água doce que está com o solo contaminado (KEMBLE et al., 2012). Por ser termofílico, a *N. fowleri* cresce bem em temperaturas de até 45°C. Possui três estágios em seu ciclo de vida: cisto, trofozoítas e flagelados. O estado de trofozoíto é o estágio reprodutivo e pode causar a doença humana invasiva. Quando os fatores ambientais não são susceptíveis de crescimento, o trofozoíto pode mudar temporariamente para uma forma flagelada. Quando as condições voltam a ser propícias ao crescimento as formas flageladas poder reverter para o estágio de trofozoíto novamente. Quando expostos a estresses ambientais, eles encistam para formar um cisto de aproximadamente 9 micrômetros de diâmetro. Os cistos (figura 3) podem resistir a temperaturas extremas, variando de acima de zero a 65°C, mas são sensíveis ao congelamento. As formas de trofozoíto replicam-se por promitose (membrana nuclear permanece intacta) e se alimentam de bactérias e fungos em águas quentes e podem encurtar-se e depositar-se em sedimentos no fundo da água quando ela esfria no inverno (GRIFFIN, 1972).

Figura 3: Ciclo de vida do *Naegleria fowleri*.



Fonte: CDC, 2017.

3.1.1. Ocorrências de Infecção por *Naegleria fowleri*

Conhecida por bactéria comedora de cérebros a *N. fowleri* ainda tem poucos estudos relacionados, mas o fato dessa escassez de estudos pode estar relacionado aos erros de diagnósticos da doença que em muitos casos associa o diagnóstico a meningite bacteriana e outras meningites.

Em várias partes do mundo identificou-se a presença do protozoário e o problema mais sério é que essa identificação ocorre somente na autópsia. O conhecimento da identificação da *N. fowleri* poderia salvar muitas vidas.

Na patogênese da meningoencefalite amebiana primária (MAP) as seguintes proteínas da ameba estão envolvidas no desenvolvimento da infecção: fosfolipase A e B, que apresenta atividade citolítica, resultando na destruição da membrana plasmática (BARBOUR; MARCIANOCABRAL, 2001); neuraminidase, que conduz à destruição tecidual (EISEN; FRANSON, 1987); presença de proteínas perforinas-like, que possuem capacidade lítica sobre as células-alvo (FRITZINGER et al., 2006); liberação de proteínas que induzem o mecanismo de apoptose em células do hospedeiro (LEE et al., 2011).

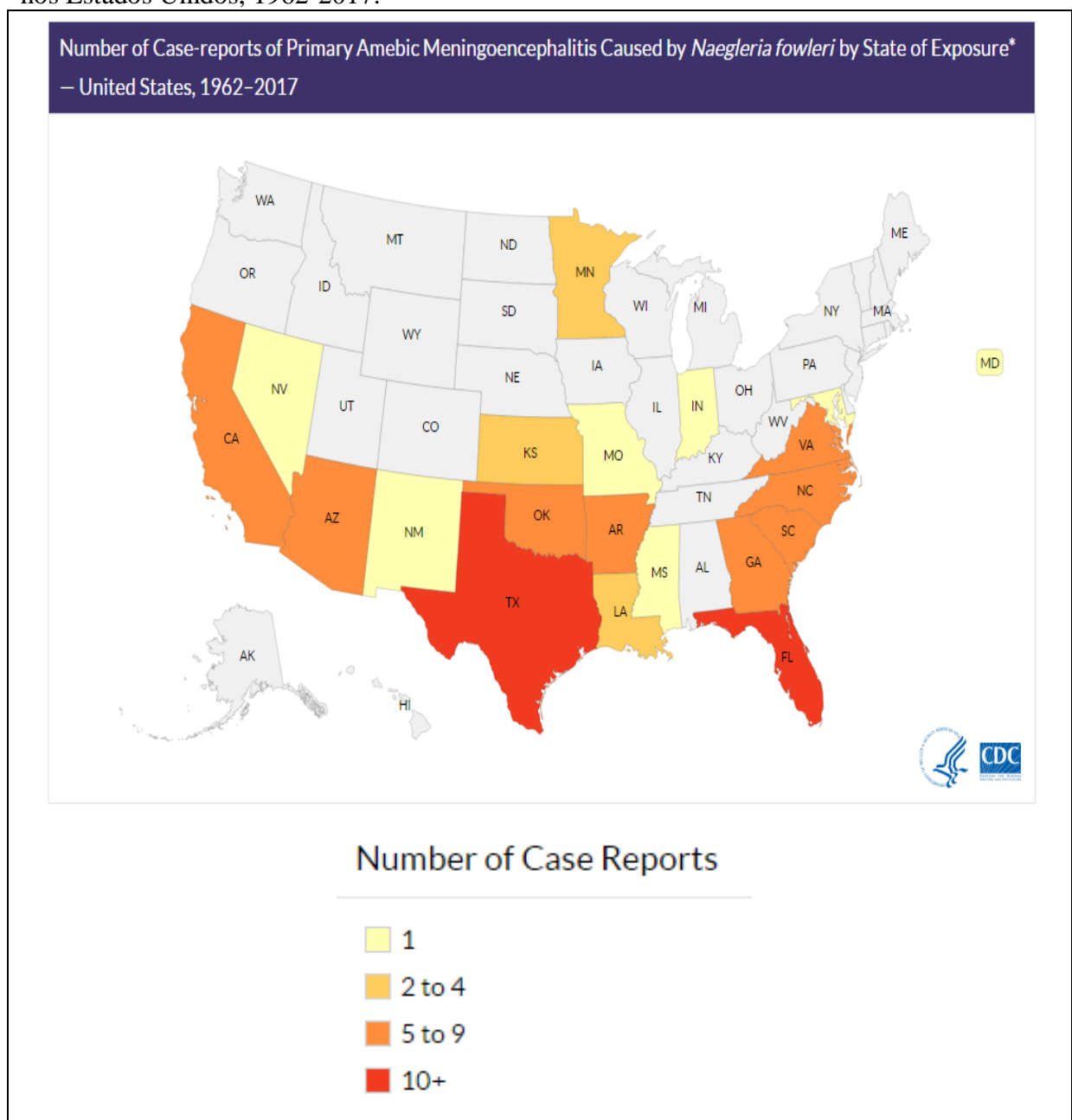
Lisbôa (2018) em matéria publicada no portal informa que a Sociedade Internacional de Doenças Infecciosas (ISID) confirmou a morte de um garoto argentino de 8 anos por uma infecção causada por uma ameba chamada de “devoradora de cérebro”. Ele teria sido infectado durante um mergulho na lagoa de Mar Chiquita na província de Junín, a cerca de 320 Km da capital Buenos Aires. O menino morreu uma semana depois de apresentar os primeiros sintomas, muito parecidos com meningite: febre, dor de cabeça, vômitos, intolerância à luz e ao barulho. Infelizmente o caso foi identificado somente após a autópsia.

O que faz com que a doença seja tão letal é a dificuldade de diagnóstico, feito somente depois de uma análise do líquido. Entre os casos registrados nos Estados Unidos, por exemplo, 75% só foram confirmados depois da morte do paciente. Mais da metade dos casos registrados no mundo se concentram no Sul dos Estados Unidos. Na América do Sul, já foram registrados dois casos na Venezuela e um na Argentina. No Brasil, existem diversos tipos de ameba de vida livre, inclusive a *N. fowleri* e o mais interessante desse fato é que em um país tropical com grande quantidade de rios, a comunidade científica e os órgãos de saúde pública não tem obrigação de notificar casos de contaminação em humanos (LISBÔA, 2018).

Na figura 4 podemos verificar a quantidade de casos relatados nos Estados Unidos. Do total de 143 pessoas infectadas entre 1962 e 2017, apenas quatro sobreviveram, segundo informações do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC na sigla em inglês).

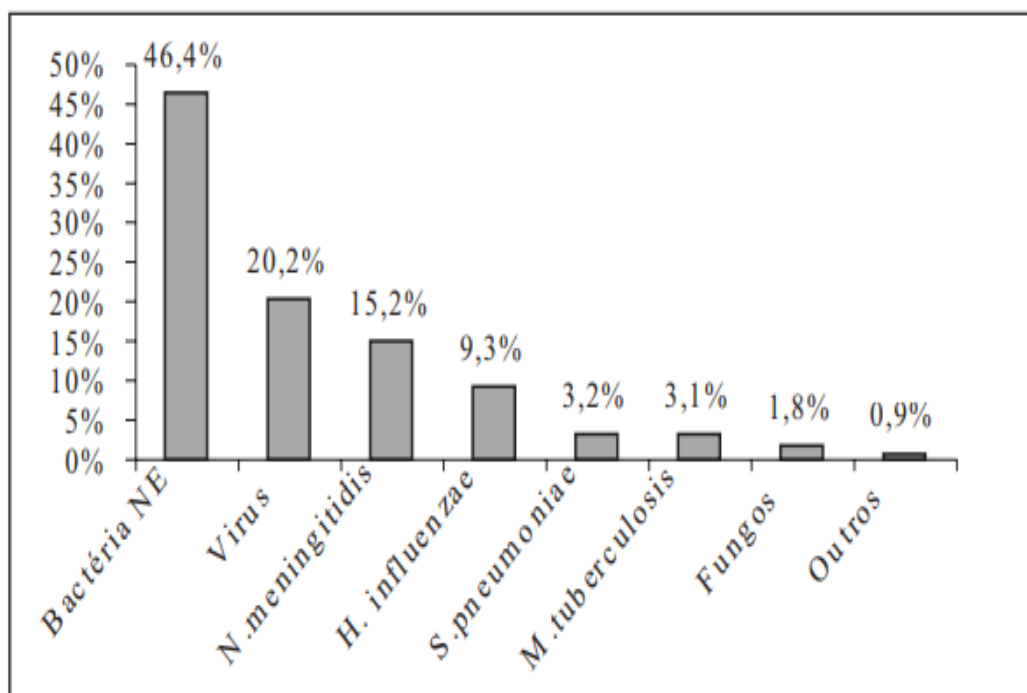
“O que falta, no Brasil, são dados específicos sobre a *Naegleria*. Não temos o número de casos no Brasil, regiões mais expostas, etc.; não temos dados de como a atividade industrial pode aumentar ou diminuir o número de formas de *Naegleria*”, afirma o cientista. (CALZAVARA, 2013).

Figura 4: Número de casos reportados de meningoencefalite causado por *Naegleria fowleri* nos Estados Unidos, 1962-2017.



Alguns poucos estudos mostram a incidência da contaminação pela *Naegleria fowleri* no Brasil. De acordo com a figura 5 podemos observar, que no estudo apresentado somente em crianças no Hospital Universitário João de Barros Barreto (FRANCO, 2006), a incidência de meningite por protozoários não é citada na pesquisa, existe uma referência a outras contaminações com 0,9% mas não descreve qual o tipo.

Figura 5: Distribuição, por agente etiológico, da prevalência de meningite em crianças internadas no HUIBB de 1995 a 2004.



FONTE: DAME/ HUIBB, 2004.

3.1.2. Técnica de diagnóstico e tratamento da *Naegleria fowleri*

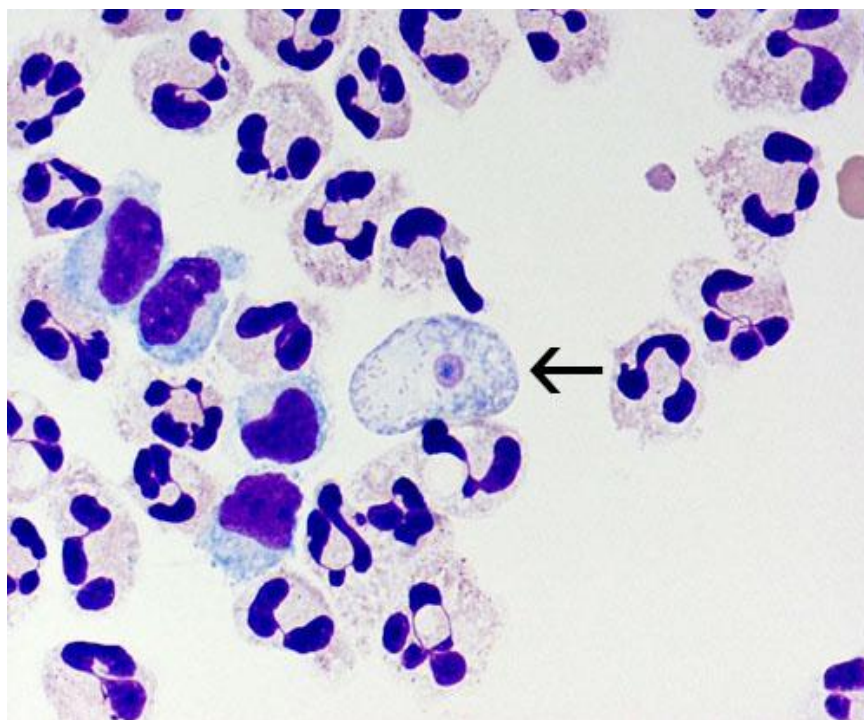
A contaminação pela bactéria *N. fowleri* é uma infecção fulminante e os principais sintomas aparecem repentinamente onde se observa óbito em 95% dos casos clínicos, manifestando clinicamente em até 5 dias após sua exposição (VISVESVARA et al., 2007).

Sinais como cefaleias, vômitos, náuseas, febre, anorexia, convulsões, alterações de comportamento, confusão mental evoluindo rapidamente cerca de sete dias após os sintomas iniciais para coma e óbito, geralmente devido à pressão intracraniana e hérnia, que são as causas da morte se a enfermidade não for tratada rapidamente (BARETE et al., 2007).

O diagnóstico da contaminação por *N. fowleri* se torna difícil por não haver características que a diferencie de outras doenças como a Meningoencefalite bacteriana, e principalmente pela baixa incidência dos casos notificados. Procedimentos como o exame

líquor devem ser adotados em caso de suspeita da enfermidade, pois as células suspensas em líquido sofrem rápida degradação *in vitro*. O exame de microscópio ótico confirma a movimentação de trofozoíto de *N. fowleri* na lâmina (figura 6) (MARTINEZ; VISVESVARA, 1997).

Figura 6: Trofozoíto de *N. fowleri* na lâmina de líquido.



Fonte: CDC, 2013

A análise do líquido tem uma importante função no diagnóstico de enfermidades neurológicas estando este presente nos ventrículos cerebrais e no espaço subaracnóideo, produzido pelos plexos coróides, tendo como função o amortecimento do encéfalo e medula espinhal contra choques, e na defesa do sistema nervoso central contra agentes infecciosos. (RAMONT et al., 2005; CANUTO; PUCCIONI-SOHLER, 2007).

Como já foi dito anteriormente, o líquido é obtido através de uma punção na medula espinhal, a coleta pode ocorrer de duas formas, via sub-occipital ou lombar e, no Brasil, a via lombar é a mais adotada pelos profissionais que realizam o procedimento, devido ao baixo risco de lesões vasculares. Na coleta deste material, quando realizada de forma inadequada, provoca erros ou variações nos resultados, comprometendo o diagnóstico (FISHMAN, 1992; PUCCIONI-SOHLER; BRANDÃO, 1996).

O líquido deve ser remetido para avaliação citológica (aspectos turvos e xantocrômicos com leucócitos aumentados, em geral mais de 500 células/mm³, com predomínio de polimorfonucleares — 90%; e hemácias, as quais aumentam progressivamente no líquido, podendo chegar a mais de 20.000 células/mm³), bioquímica (glicorraquia em torno de 10 mg/dl, proteinorraquia elevada), bacteriológica (bacterioscopia e cultura negativas), micológica com exame direto e cultura negativas e parasitológica com presença de trofozoítos que podem ser visualizadas através da coloração por hematoxilina férrica, Giemsa e Gram (SOTELO-AVILA, 1987).

Conforme Foronda (1979), cultura em ágar não-nutriente com bactérias vivas ou mortas, o material pode ser semeado ou em meio de infusão de soja e ágar. Utiliza-se o teste de flagelação após o isolamento (JAIN, 2002).

Devido ao grande número de gêneros de amebas encontradas a correta identificação de *N. fowleri* no ambiente é difícil, pois muitas possuem morfologia semelhante (CABRAL, 2003).

O tratamento MAP por *N. fowleri* deve ser iniciado o mais precocemente possível. Estima-se que de duzentos casos confirmados apenas doze sobreviveram. Vários medicamentos foram testados contra essa espécie de ameba, como anfotericina B, rifampicina, ornidazol, miconazol, sulfametoxazol e cloranfenicol (JAIN, 2002; WANG, 1993; BROWN, 1991), com os melhores resultados sendo descritos com o uso de anfotericina B49 (quadro 1), tanto em termos experimentais quanto clínicos (BROWN, 1991).

Quadro 1: Doses, efeitos adversos e observações em relação ao uso da anfotericina B.

Fármaco	Efeitos Adversos Principais	Doses habituais	Observações
Anfotericina B	Nefrotoxicidade, hipocalcemia (que pode ser grave), anemia, febre, calafrios e flebites.	Dose usual: 0,5 a 1 mg/kg/dia, por via intravenosa, 24/24 h (máximo 50 mg/dia)*.	Diluir a dose em 500 ml de soro glicosado (5%) e associar, no mesmo frasco 1.000 U de heparina e 50 mg de hidrocortisona; infundir em 4 a 6 horas.
* Esta é a dose habitual do fármaco; para o tratamento das infecções por <i>Naegleria fowleri</i> pode ser útil a consulta à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar ou a um infectologista.			

Fonte: Batista, 2007.

3.2. *Acanthamoeba spp.*

A *Acanthamoeba* é um protozoário anfizóico, seres que possuem a capacidade de invadir um hospedeiro e viver como parasita e também possuem a habilidade de viver livremente, mais encontrada e distribuída na natureza podendo ser encontrada no ar, solo e água. Sobrevive em diferentes ambientes como, água doce e do mar, água salobra, esgoto, prato de vasos, ambientes hospitalares, unidades dentária e de diálise, solução de lentes de contato, entre outros (SHUSTER; VISVESVARA, 2004). De acordo com Adl (2005) pertence ao grupo Amebozoa (subdivisão: Acanthamoebidae). Em outros seres vivos a *Acanthamoeba* também foi isolada, tais como vegetais, peixes, répteis, anfíbios, cães, macacos e pássaros (VISVESVARA et al., 2007). Essa ameba pode sobreviver em condições adversas, como de osmolaridade, temperatura, salinidade e pH, além de ser encontrada também em água destilada, cultura de células, fluídos corporais e temperaturas superiores a 37°C.

Khan (2006) observou que os acantopodias permitem ao protozoário adesão à superfícies e a realização de movimentos celulares e a replicação dos trofozoítos ocorre por fissão binária alimentando de bactérias, algas, fungos e pequenas partículas orgânicas.

A forma invasiva e infectante da *Acanthamoeba* é conhecida como trofozoíta e estes não conseguem sobreviver por muito tempo em ambientes com falta de alimento, temperatura e pH extremos e soluções de hiper ou hiposmolaridade. Os trofozoítos como forma de resistência, se diferenciam em cistos compostos por duas paredes denominadas endo e ectocisto. Na forma de cisto está protegido da dessecação, falta de alimentos e também de muitos agentes químicos e físicos possuindo poros que monitoram as condições do ambiente e, em condições favoráveis, se diferencia novamente em trofozoíto (AKSOZEK et al., 2002). Mazur et al. (1994) descreve que a resistência do cisto é tão grande que essa forma evolutiva é capaz de sobreviver in vitro por períodos superiores a 20 anos e com o retorno das condições favoráveis ao crescimento, os cistos germinam para dar novamente origem aos trofozoítos.

A *Acanthamoeba* é capaz de causar infecções cutâneas, otites, sinusite, osteomielites, nefrites entre outras infecções sistêmicas, de maneira que dependem do estado imunológico deprimido do hospedeiro (MARCIANO-CABRAL; CABRAL, 2003; SCHUSTER; VIVESVARA, 2004). Uma doença de curso clínico prolongado, com quadro subagudo ou crônico, causada por várias espécies do gênero *Acanthamoeba* (MARTINEZ et al., 1994; MARCIANO-CABRAL; CABRAL, 2003). Por ser considerada uma doença oportunista e que

ocorre principalmente em indivíduos com imunidade comprometida também está associada a outras doenças que provocam alto grau de debilitação ao organismo, como: lúpus eritematoso sistêmico, diabetes, insuficiência renal, tuberculose, cirrose, úlceras de pele, doença de Hodgkin e infecções por HIV. (MURAKAWA et al., 1995; MARCIANO-CABRAL; CABRAL, 2003).

A capacidade patogênica do gênero *Acanthamoeba*, a resistência a desinfetantes e aumento da prevalência em infecções, segundo Khan (2006), sugere a importância da caracterização dos fatores de patogenicidade destes organismos. A *Acanthamoeba* invade a célula hospedeira, provocando eventos secundários, como a interferência nas sinalizações intracelulares, secreções de proteínas e a habilidade de fagocitar levando as células do hospedeiro à morte. A aderência é uma importante propriedade para a colonização dos parasitos nas células do hospedeiro como demonstrado por Morton et al. (1991) determinou que o início da ligação é dependente da expressão da que é medida por uma ameba adesina (MBP) expressa na superfície do parasita. Essa proteína transmembrana é composta de glicoproteínas e manoses, com peso molecular de 400 KDa e constituída de múltiplas subunidades de 130 KDa (Yang et al., 1997). A MBP é caracterizada como a responsável pela adesão do parasita na célula do hospedeiro como também pela indução do efeito citopático (GARATE et al., 2005).

Khan (2006) sugere que a MBP de *Acanthamoeba* é a proteína responsável pela sua propriedade patogênica e pode servir como importante marcador de virulência. De acordo com a classificação dos grupos genéticos de *Acanthamoeba*, definiu-se que existe correlação direta entre os genótipos e o grau de patogenicidade, no entanto estes fatores ainda não estão bem esclarecidos. Também determina que a adesão por MBP e a fagocitose de *Acanthamoeba* são mecanismos cruciais para o início da infecção à célula hospedeira e a determinação da patogenicidade destes organismos. A ampla dispersão de *Acanthamoeba* e sua habilidade em sobreviver nos diferentes habitats também caracterizam o potencial patogênico desta espécie (KHAN, 2006).

A porta de entrada da ameba pode ser tanto através do trato respiratório quanto de úlceras de pele (qualquer ferida aberta na superfície do corpo), inclusive através de cateteres de diálise peritoneal (MARTINEZ et al., 1982). Embora possa ocorrer a invasão por meio do epitélio neuro-olfativo, a via de invasão no SNC (Sistema Nervoso Central) parece ser a hematogênica a partir do foco primário de entrada da ameba (MARTINEZ et al., 1994).

O período de incubação da doença não é bem conhecido, podendo ser de semanas a meses. Em alguns pacientes foi relatado o aparecimento de nódulos na pele poucos dias antes do aparecimento dos sintomas neurológicos, isso ocorre devido a disseminação da infecção amebiana (SISON et al., 1995). Os principais sintomas provocados pela Encefalite Amebiana Granulomatosa são: aumento da pressão intracraniana, desordens no estado mental, cefaleia intensa, rigidez na nuca, náuseas, febres, vômitos e um nível diminuído de consciência (FORONDA; CAMPOS, 1991). Algumas áreas são consideradas mais propícias nas infecções cerebrais, como: hipotálamo, diencéfalo e bulbo raquidiano. Nestes casos a deterioração pode ser considerada progressiva, com edema intenso e necrose com presença dos trofozoítos e cistos. Em alguns casos a encefalite se apresenta como um tumor cerebral, chegando a ocupar um espaço bem definido (MURAKAWA et al., 1995).

Uma infecção também ligada a *Acanthamoeba* é a ceratite ou queratite amebiana. Em contraste com a Encefalite Amebiana Granulomatosa, a ceratite amebiana é uma infecção aguda da córnea, extremamente dolorosa e de progressão rápida, podendo resultar em cegueira e diminuição da acuidade visual (ILLINGWORTH; COOK, 1998). Independente do estado imunológico do indivíduo, o uso inadequado de lentes de contato é o principal fator de risco para essa infecção ocular causada por *Acanthamoeba* (AWWAD et al., 2007).

Desde sua descrição em 1974, a incidência de ceratite amebiana vem aumentando face à popularização do uso de lentes de contato. Infelizmente, não há dados epidemiológicos sólidos sobre a incidência de ceratite amebiana no Brasil. Mesmo assim, é importante frisar que cerca de 10 a 15% dos casos de ceratite amebiana são observados em indivíduos que não usam lentes de contato os quais apresentaram sintomatologia e patologia similar às aquelas infecções presentes em usuários de lentes de contato (ILLINGWORTH; COOK, 1998).

3.2.2. Ocorrências de Infecção por Acanthamoeba spp.

O caso relatado a seguir demonstra como um paciente acometido por Encefalite Amebiana pode ter uma rápida evolução se não diagnosticado e tratado de forma rápida e correta. Segundo o relato de Marçal et al. (2016), um paciente de 62 anos, sexo masculino, evoluindo, a 45 dias, com paresia em membro inferior esquerdo, de aparecimento súbito e rápida progressão paraplegia em dimídio esquerdo, sem relato de febre ou sintomas gerais de emagrecimento, inapetência, hiporexia. A análise do líquido apresentou aspecto turvo, xantocrômico, com 11 leucócitos/mm³ (100% mononucleares); 101 hemácias/mm³;

hipoglicorraquia, 154 mg proteínas/dl; cloretos 108 mEq/L e imunologia sem anormalidades. Com o progresso da doença o paciente foi submetido a ventilação mecânica e cuidados em unidade de terapia intensiva (UTI). Submetido a análise microbiológica e histológica observou-se expansão das lesões cerebrais com destruição do tecido nervoso. Após 44 dias de internação hospitalar o paciente evoluiu para óbito. Somente após 30 dias da morte do paciente o laudo oficial constatou extensas áreas de necrose.

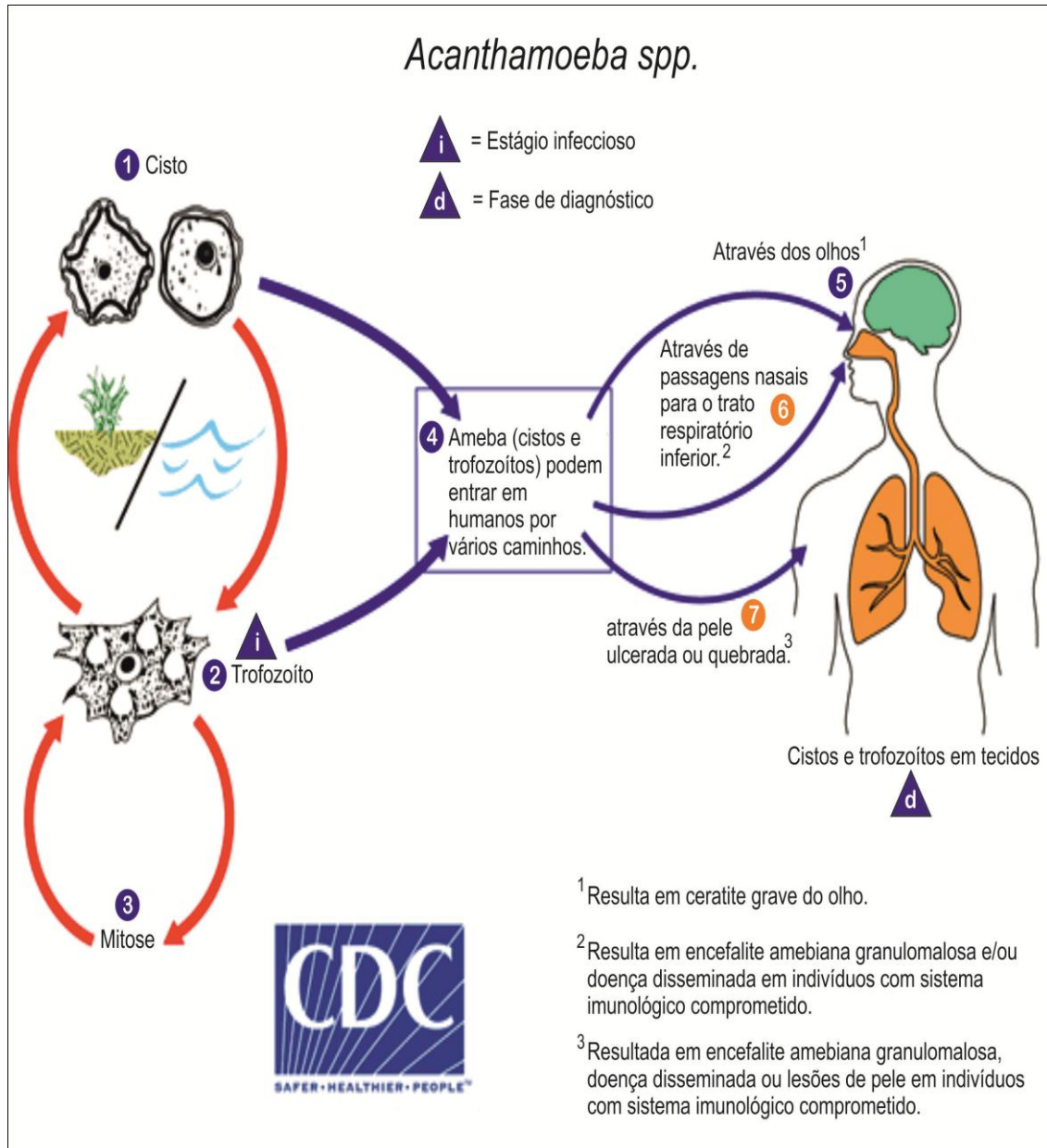
Marçal et al. (2016) conclui que pela evolução desta patologia ser quase sempre devastadora é necessário de um diagnóstico clínico precoce uma vez que os exames padrão são de difícil acesso na prática clínica.

3.2.3. Técnica de diagnóstico e tratamento da Acanthamoeba spp.

A *Acanthamoeba* causa uma doença chamada Encefalite Amebiana Granulomatosa que é uma doença de curso clínico prolongado, com um quadro subagudo ou crônico podendo ser causado por várias espécies do gênero. Dentre as *Acanthamoebas*, as mais comuns são *A. polyphaga*, *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. rhysodes* e *A. divionensis* (MARTINEZ et al., 1994). Ocorrem principalmente em indivíduos com imunidade comprometida, doentes crônicos, alcoólatras, pacientes imunocomprometidos e pessoas submetidas a tratamento com drogas imunossupressoras. É considerada uma infecção oportunista e está também, geralmente, associada as outras doenças que provocam alto grau de debilitação ao organismo, como: diabetes, insuficiência renal, lúpus eritematoso sistêmico, cirrose, úlceras de pele, tuberculose, infecções por HIV e doença de Hodgkin (MURAKAWA, 1995; MARCIANO-CABRAL, CABRAL, 2003).

A *Acanthamoeba* apresenta dois estágios durante o ciclo de vida: um vegetativo, caracterizado pela forma e trofozoíto (8 – 40 μm) e um estágio dormente, cuja forma evolutiva compreende o cisto (8 – 29 μm). A morfologia do trofozoíto é caracterizada pela presença de um único núcleo e de pequenas projeções em direção contrária ao corpo, comumente conhecidas como acantopodia. Os acantopodias permitem ao protozoário adesão à superfícies e a realização de movimentos celulares (figura 7). Os trofozoítos se alimentam de bactérias, algas, fungos e pequenas partículas orgânicas, enquanto que sua replicação ocorre por fissão binária (KHAN, 2006).

Figura 7: Ciclo de Vida da *Acanthamoeba spp.*



Fonte: CDC, 2017.

3.3. *Balamuthia mandrillaris*

A espécie foi descrita em 1993, pertencente à ordem Leptomyxida. Há vários relatos de Encefalite Amebiana Granulomatosa (EAG) por esta espécie de ameba, principalmente em pacientes com AIDS. As infecções do sistema nervoso central por *Balamuthia mandrillaris* incidem geralmente em pacientes imunodeprimidos e tem período de incubação desconhecido; varias semanas ou meses são necessários para o aparecimento da doença, e a evolução clinica pode ser prolongada. (CIMERMAN, 2005). Adl (2005) classifica a

Balamuthia mandrillaris como pertencente ao grupo Amebozoa (subdivisão: Acanthamoebidae).

Segundo Jayasekera et al. (2005) estudos indicam que as células do endotélio microvascular do cérebro são induzidas a produzirem interleucina 6 (IL6) (citocina pró-inflamatória) pela *B. mandrillaris*. Através da ação de uma metaloprotease a *B. mandrillaris* promove a degradação da matriz extracelular (MATIN et al., 2006).

Em se tratando de doença não-disseminada, com granulomas em diversas regiões do encéfalo, as manifestações clínicas dependem da localização das lesões. Vários sinais neurológicos de localização, como hemiparesias, mudanças de personalidade e convulsões, aparecem durante o curso clínico. Estado mental alterado é sintoma importante em EAG. A cefaleia é insidiosa e ocorre precocemente em alguns casos. A febre é esporádica e geralmente baixa (CIMERMAN, 2005).

Balamuthia mandrillaris é a única espécie do gênero *Balamuthia* conhecida por causar infecções em humanos e animais. É responsável por infecções cutâneas graves, bem como, por encefalites que, na maioria das vezes, é fatal (TRABELSI et al., 2012).

O tratamento mais indicado para os pacientes com comprometimento do SNC por *Balamuthia*, segundo Marciano-Cabral (2003), é realizado com um coquetel de antibióticos e anti-fúngicos, como por exemplo, rifampicina, trimetoprima, cetoconazol, entre outros, todavia, o prognóstico de sucesso é pequeno devido à demora do diagnóstico, o estado imunodeficiente do paciente e a falta de drogas específicas para eliminar o patógeno.

3.3.1. Ocorrências de Infecção por *Balamuthia mandrillaris*

Em matéria publicada na revista Live Science (MILLER, 2018) uma mulher de Seattle, EUA, morre de uma infecção extremamente incomum. Segundo o relato começou com uma infecção sinusal persistente e após consulta os médicos recomendaram um antialérgico. Após esta recomendação a paciente observou que uma erupção apareceu do lado direito de seu nariz (figura 8) de acordo com o relatório do caso publicado por Piper et al. (2018) no International Journal of Infectious Diseases.

Após várias visitas a um dermatologista a erupção não havia desaparecido e após um ano do surgimento a mulher teve uma convulsão (PIPER et al., 2018). Uma Tomografia computadorizada revelou uma lesão de 1,5 centímetros em seu cérebro. Piper et al. (2018) relata que para o Dr. Charles Cobbs, do Centro Médico Sueco parecia um tumor já que a

mulher tinha histórico de câncer de mama, mas quando removido constatou que era apenas tecido cerebral morto. Foi enviada uma amostra para neuropatologistas da Universidade Johns Hopkins para uma análise mais aprofundada.

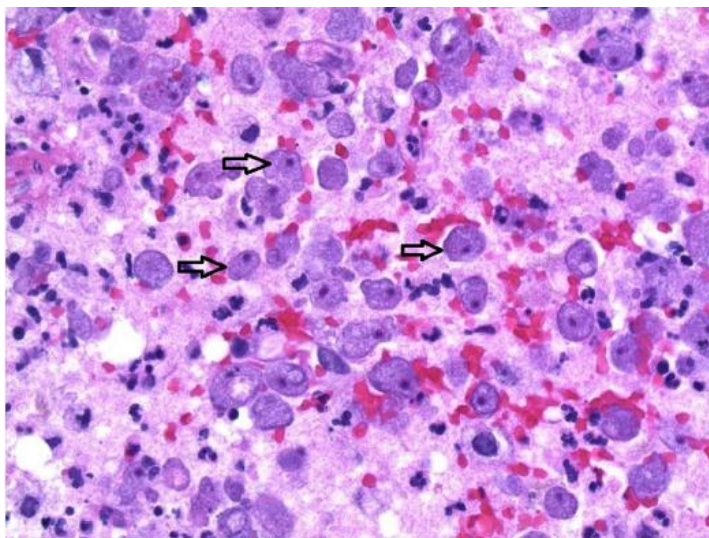
Figura 8: A ferida nasal, inicialmente acredita-se ser rosácea, que precedeu a lesão cerebral do paciente.



Fonte: Piper, 2018.

Piper et al. (2018) relata ainda que após a operação de retirada do tumor a mulher foi mandada para casa, mas logo em seguida os patologistas do Hopkins informaram ser uma infecção amebiana. A mulher foi levada pelo Dr. Cobbs imediatamente para cirurgia, mas sua condição era gravíssima. Quando os médicos examinaram essas amostras do tecido sob microscópio, puderam ver as amebas (figura 9). Os médicos contataram o CDC e o laudo de infecção por *Balamuthia mandrillaris* foi confirmado e o paciente veio a óbito por meningoencefalite provocada por protozoário.

Figura 9: Coloração H&E de tecido cerebral não necrótico com setas indicando Trofozoítos de *Balamuthia mandrillaris*. Os trofozoítos exibem um roxo, moderadamente citoplasma borbulhante, um único núcleo vermelho escuro distinto e bordas celulares indistintas.



Fonte: Piper et al., 2018.

3.3.2. Técnica de diagnóstico e tratamento *Balamuthia mandrillaris*

Em se tratando de doença não-disseminada, com granulomas em diversas regiões do encéfalo, as manifestações clínicas dependem da localização das lesões. Vários sinais neurológicos de localização, como hemiparesias, mudanças de personalidade e convulsões, aparecem durante o curso clínico. Estado mental alterado é sintoma importante em Encefalite Amebiana Granulomatosa (EAG). A cefaleia é insidiosa e ocorre precocemente em alguns casos. A febre é esporádica e geralmente baixa, (CIMERMAN, 2005).

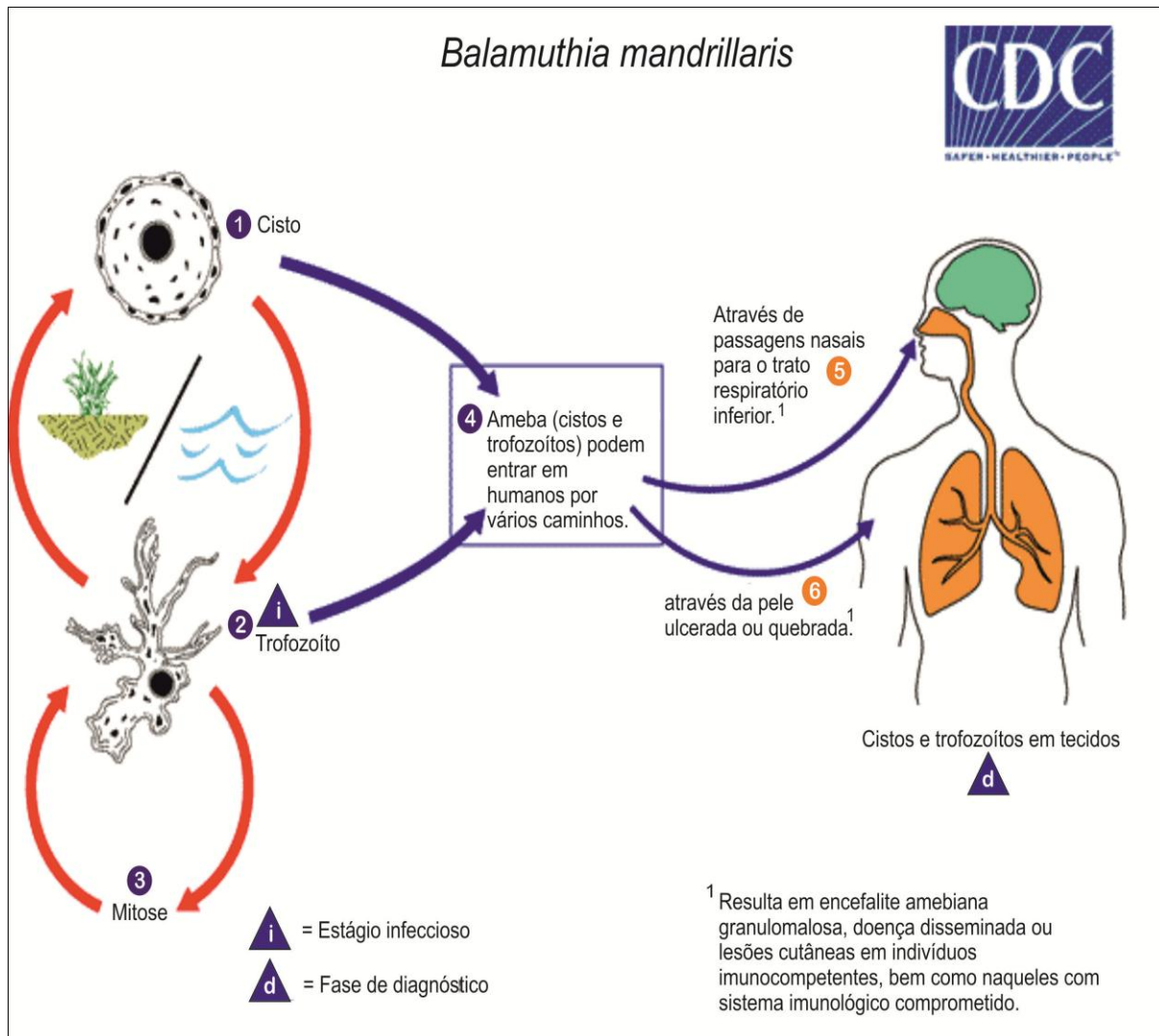
A *B. mandrillaris* está presente apenas no solo, sendo difícil seu isolamento e cultivo (MATIN et al., 2008). A *B. mandrillaris* não pode ser cultivada em ágar suplementado com bactérias Gram-negativas, como as demais Amebas de Vida Livre - AVL, devido ao fato dessa ameba não se alimentar de bactérias. Contudo, o crescimento in vitro da *B. mandrillaris* requer o uso de células de cultura como fonte de alimento (TRABELSI et al., 2012).

B. mandrillaris, assim como a *Acanthamoeba*, apresenta apenas dois estágios em seu ciclo biológico, cisto e trofozoíto. O trofozoíto é pleomórfico e mede de 12 a 60 μm , com média de 30 μm . Normalmente o trofozoíto apresenta apenas um núcleo. Contudo, formas binucleadas podem ocorrer. Quando as condições do meio se tornam adversas, o trofozoíto se diferencia em sua forma de resistência, o cisto. Os cistos são esféricos e medem entre 12 a 30 μm de diâmetro, com média de 15 μm . Apresentam uma parede celular extremamente

resistente, formada por três camadas e não possuem poros (figura 10). Ademais, os cistos são tripartidos: ectocistos (localizado na periferia do cisto); endocisto (localizado na porção mais interior) e mesocisto (localizado na porção média) (VIVESVARA et al., 2007; TRABELSI et al., 2012).

Segundo Visvesvara (2007) pela falta de sintomas específicos e de diagnósticos eficiente o tratamento é extremamente problemático. Medicamentos como a Pentamidina normalmente usada para tratar infecções fúngicas, antibióticos como a Sulfadiazina ou trimetoprima/sulfametoxazol, Flucitosina e Fluconazol ou os medicamentos relacionados voriconazol ou itraconazol que são medicamentos antifúngicos além da Anfotericina B são usados no tratamento.

Figura 10: Ciclo de Vida da *Balamuthia mandrillaris*.



Fonte: CDC, 2017.

4. Considerações finais.

Existem poucos relatos sobre meningoencefalite infecciosas provocadas por protozoários na literatura e esta falta não está relacionada a não existência do problema, mas a dificuldade de encontrar o diagnóstico correto. Em vários relatos apresentados foi notória a gravidade quando as AVL não foram diagnosticadas rapidamente e os casos relatados levaram pacientes a óbito pela falta de um laudo mais preciso do caso.

A análise dos três protozoários apresentados, a *Naegleria*, a *Balamuthia*, e a *Acanthamoeba*, mostrou a gravidade que o erro ou a falta do diagnóstico pode causar a vida do paciente. Os órgãos de saúde não estão preparados para atender os pacientes infectados com estes protozoários e não existem protocolos pré-estabelecidos para o acolhimento. Países como o Brasil, com inúmeros rios e de clima tropical podem estar subestimando o grau de perigo da doença.

A pesquisa requer um aprofundamento no estudo através da coleta de material em piscinas particulares, clubes, rios e até mesmo em locais de grande circulação, pois na pesquisa apresentada constatou-se por estudos que os trofozoítos pode entrar em um estado de cistos e em condições adversas manter-se vivo por períodos superiores a 20 anos.

Em países com condições de saneamento público precário uma observação nas mudanças de procedimento de acolhimento do paciente pode evitar que mortes aconteçam pelo diagnóstico precipitado, poisos médicos não dispõem de técnicas para promover um laudo mais preciso.

5. Referências

ADL, S. M. et al. The new higher level classification of Eukaryotes with emphases on the taxonomy of Protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. Nova Jersey, v. 52, n. 5, p. 399-451, out. 2005.

AKSOZEK, A. et al. Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cysts to physical, chemical and radiological conditions. **Journal of Parasitology**. Minnesota, v. 88, 621-623, jun. 2002.

AWWAD, S. T. et al. Updates in *Acanthamoeba* keratitis. **Eye and Contact Lens**. Vancouver, v. 33, p. 1-8, jan. 2007.

BARBOUR, S. E.; MARCIANO-CABRAL, F. *Naegleria fowleri* amoebae express a membrane-associated calcium-independent phospholipase A (2). **Biochimica et Biophysica Acta**. Netherlands, v. 1530, p. 123-133, 2001.

BARETE, S. et al. Fatal disseminated *Acanthamoeba lenticulata* infection in a heart transplant patient. **Emerging Infectious Diseases**. França, v. 13, n. 5, p. 736–738, mai. 2007.

BATISTA, S. R. et al. Neuroinfecção por *Naegleria fowleri*: aspectos clínico-terapêuticos, epidemiológicos e ecológicos. **Revista Neurociencia**. Rio de Janeiro, v. 14, n. 4, p. 310-316, abr. 2007.

BELLINI, N. K. **Estudo celular, bioquímico e biofísico da enzima selenofosfato sintetase da *Naegleria gluberi***. Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo. São Carlos: 2015.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia de vigilância em saúde**. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRETT, A. Meningite e meningoencefalite. In: OLIVEIRA, G.; SARAIVA, J. **Lições de Pediatria**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, v. 2, p. 164-173, jun. 2017.

BROWN, R. L. Successful treatment of primary amebic meningoencephalitis. **Archives of Internal Medicine**. Chicago, v. 151, p. 1201-1202, nov. 1991.

CABRAL, F. M. et al. Identification of *Naegleria fowleri* in domestic water sources by Nested PCR. **Applied and Environmental Microbiology**. Newark, v. 69, p. 5864-5869, out. 2003.

CALZAVARA, B. **Misteriosa ameba devoradora de cérebro desafia pesquisadores**. São Paulo, ago. 2013. Disponível em: <<https://hypescience.com/misteriosa-ameba-comedora-de-cerebro-desafia-pesquisadores/>> Acesso: 10 abr. 2019.

CANUTO, R.; PUCCIONI-SOHLER, M. In: PUCCIONI-SOHLER, M. **Fundamentos do exame do líquido cefalorraquidiano**. Diagnóstico laboratorial das infecções do sistema nervoso central. Biblioteca Nacional, v. 11, p. 15, 2007.

CDC. Free Living Amebic Infections. **Centers for Disease Control and Prevention**. Atlanta, dec. 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/freelivingamebic/index.html>> Acesso: 22 fev. 2019.

CIMERMAN, B., CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 159-178, 2005.

COPE, J. R. et al. Primary Amebic Meningoencephalitis Associated With Rafting on an Artificial Whitewater River: Case Report and Environmental Investigation. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 66, n. 4, p. 548-553, fev. 2018.

EISEN, D.; FRANSON, R. C. Acid-active neuraminidases in the growth media from cultures of pathogenic *Naegleria fowleri* and in sonicates of rabbit alveolar macrophages. **Biochimica et Biophysica Acta**, Netherlands, v. 924, n. 2, p. 369–372, 1987.

FISHMAN, R. A. **Cerebrospinal fluid in diseases of the nervous system**. 2. Ed. Philadelphia: Saunders, 1992.

FORONDA, A. S. **Observações sobre amebas de vida livre potencialmente patogênicas**. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1979.

FORONDA, A.S.; CAMPOS, R. **Infecções por amebas de vida livre**. In: **VERONESI R. Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

FRANCO, M. C. A.; SANJAD, M. R.; PINTO, P. H. O. Prevalência de meningite em crianças no Hospital Universitário João de Barros Barreto, período de 1995 a 2004. **Revista Paraense de Medicina**, Pará, v.20,p. 33-39, mar. 2006.

FRITZINGER, A. E. et al. Identification of a *Naegleria fowleri* Membrane Protein Reactive with Anti-Human CD59 Antibody. **Infection and Immunity**, Washington v. 74, n. 2, p. 1189–1195, 2006.

GARATE, M. et al. Biochemical characterization and functional studies of *Acanthamoeba* mannose-binding protein. **Infection and immunity**. Washington, v. 73, p. 5775-5781, nov. 2005.

GRACCIA, D. S. et al. Outbreaks Associated with Untreated Recreational Water United States, 2000-2014. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Washington, v. 67, n. 25, p. 701-706, jun. 2018.

GREENLEE, J. E. Meningite não infecciosa. **Manual MSD**. New Jersey, 2019. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/distúrbios-neurológicos>. Acesso em: 25 de mai. 2019.

GRIFFIN, JL. Temperature tolerance of pathogenic and nonpathogenic freeliving amoebas. **Science**. Washington, v. 178, n. 4063, p. 869-870, nov. 1972.

ILLINGWORTH, C. D.; COOK, S.S. *Acanthamoeba* keratitis. **Survey Ophthalmolgy**, Amsterdã, v. 42, p. 493-508, mai. 1998.

JAIN, R. et al. *Naegleria meningoencephalitis*: a rare survival. **Neurology India**, v.50, p. 470-472, dez. 2002.

JAYASEKERA, S. et al. *Balamuthia mandrillaris* stimulates IL-6 release from primary human brain microvascular endothelial cells via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. **Microbes and Infection**. Paris, v. 7, 1345–1351, out. 2005.

KATERYNAKON. **Flagellate forma do parasita *Naegleria fowleri*– imagens de bancos de imagens**. New York, dec. 2017. Disponível em: <<https://br.depositphotos.com/177949624/stock-photo-flagellate-form-of-the-parasite.html>> Acesso: 03 de mar. 2019.

KEMBLE, S. K. et al. Fatal *Naegleria fowleri* infection acquired in Minnesota: possible expanded range of a deadly thermophilic organism. **Clinical Infectious Diseases**. Chicago, v. 54, n. 6, p. 805-809, mar. 2012.

KHAN, N.A. Acanthamoeba: biology and increasing importance in human health. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews**, Oxford, v. 30, p. 564-595, jul. 2006.

LEE, Y. J. et al. Naegleria fowleri Lysate Induces Strong Cytopathic Effects and Pro-inflammatory Cytokine Release in Rat Microglial Cells. **Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 49, n. 3, p. 285–290, 2011.

LISBÔA, G. Ameba que “come cérebro” pode ser encontrada no Brasil. São Paulo, fev. 2018. Disponível em: <<https://noticias.r7.com/saude/ameba-que-come-cerebro-pode-ser-encontrada-no-brasil-28022018>> Acesso: 02 fev. 2019.

MARÇAL, E. C. et al. Encefalite amebiana granulomatosa: Relato de caso. **Revista Ciência e Saúde**, Porto Alegre, v. 1, n.1, p. 60-67, jul. 2016.

MARCIANO-CABRAL, F; CABRAL, G. Acanthamoeba ssp. as agents of disease in humans. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 16, 273-307, apr. 2003.

MARTINEZ, A. J. Acanthamoebiasis and immunosuppression. Case report. **Journal of Neuropathology e Experimental Neurology**, Oxford, v. 41: 548-557, set. 1982.

MARTINEZ, A. J.; VISVESVARA, G.S. Free-living, amphizoic and opportunistic amebas. **Brain Pathology**, Zurich, v. 7, p. 583-596, jan. 1997.

MARTINEZ, J.M. et. al. Granulomatous amebic encephalitis: a review and report of spontaneous case from Venezuela. **Acta Neuropathologica**. Newcastle, v. 87, p. 430-434, jan. 1994.

MATIN, A. et al. Balamuthia mandrillaris stimulates interleukin-6 release in primary human brain microvascular cells via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. **Microbes and Infection**. Paris, v. 7, n. 1, 1345–1351, out. 2005.

MAZUR, T.;HADAS E. The effect of the passages of Acanthamoeba strains through mice tissues on their virulence and its biochemical markers. **Parasitology Research**. Berlin, v. 80, p. 431-434, mai. 1994.

MILLER, S. G. 'It Was Just Dead Brain Tissue': Seattle Woman Dies from Extremely Unusual Infection. New York, dec. 2018. Disponível em: <<https://www.livescience.com/64254-brain-amoeba-balamuthia-mandrillaris.html>> Acesso: 10 de mar. 2019.

MIRANDA, E.C.B.M et al. **Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico**. 1.ed Belém: Ed. Cejup, 1997.

MORTON, L. D. et al. Effects of temperature, amebic strain, and carbohydrates on Acanthamoeba adherence to corneal epithelium in vitro. **Infection and immunity**. Washington, v. 59, p. 3819-3922, out. 1991.

MURAKAWA, G.J. Disseminated acanthamebiasis in patients with AIDS. A report of five cases and a review of the literature. **Archives of Dermatology**. Germany, v. 131, p. 1291-1296, nov. 1995.

PIPER, K. J. et al. Fatal Balamuthia mandrillaris brain infection associated with improper nasal lavage. **International Journal of Infectious Diseases**. Índia, n. 77, p. 18–22, dez. 2018.

PUCCIONI-SOHLER, M.; BRANDÃO, C. O. **Manual de análise do líquido cefalorraquidiano (LCR)**. Rio de Janeiro: Neuro life Laboratórios, 1996.

RAMONT, L. et al. Effects of hemolysis and storage condition on neuron-specific enolase (NSE) in cerebrospinal fluid and serum: implications in clinical practice. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. Germany, v. 43, p. 1215-7, nov. 2005.

ROTHER, E.T. Revisão Sistemática X Revisão Narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**. São Paulo, v. 20, n. 2, p. 5-6, abr. 2007.

SCHUSTER, F.L.; VISVESVARA, G.S. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. **Journal of Parasitology**. Oxford, v.34, p. 1001–1027, ago. 2004.

SISON, J. P. et al. Disseminated Acanthamoeba infection in patients with AIDS: case reports and review. **Clinical Infectious Diseases**. Oxford, v. 20, p. 1207-1216, mai. 1995.

SOTELO-AVILA, C. Naegleria and Acanthamoeba. Free-living amebas pathogenic for man. **Perspectives in Pediatric Pathology**. Chicago, v.10, p. 51-85, 1987.

THOMÉ, C. Meningite transmitida por parasita avança no Brasil. **O Estado de São Paulo**. São Paulo, 04 ago. 2014. Disponível em: <<https://sao-paulo.estadao.com.br/noticias/geral,meningite-transmitida-por-parasita-avanca-no-brasil-imp-1538392>> Acesso: 03 mar. 2018.

TRABELSI, H. et al. Pathogenic free-living amoebae: epidemiology and clinical review. **Pathologie Biologie**. Paris, v. 60, n. 6, p. 399–405, dez. 2012.

VANDERLINDE, G.; GOUVÊA, E. F. Diretrizes Clínicas para o Manejo de Meningoencefalites. **Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.hucff.ufrj.br>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

VISVESVARA, G. S.; MAGUIRE, J. H. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp, Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. **Tropical Infectious Diseases**. Philadelphia, v. 2, n. 1, p. 1114–1125, 2006.

VISVESVARA, G. S. et al. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews**. Oxford, v. 50, n. 1, p. 1–26, 2007.

WANG, A. et al. Successful treatment of amoebic meningoencephalitis in a Chinese living in Hong Kong. **Clinical Neurology and Neurosurgery**. Amsterdam, v.95, p. 249-252, dez. 1993.

YANG, Z. et al. Pathogenesis of Acanthamoeba keratitis: carbohydrate-mediated host-parasite interactions. **Infection and immunity**. Washington, v. 65, p. 439-445, feb. 1997.