



Acanthamoeba

J. M. P. Alves

Laboratório de Genômica & Bioinformática em Parasitologia

Departamento de Parasitologia, ICB, USP



O parasita

- Dos diferentes gêneros de amebas de **vida livre** que podem ser ocasionalmente encontrados parasitando humanos, dois se destacam
- ***Acanthamoeba*** spp. e ***Naegleria fowleri***
- Ambas são patógenos **oportunistas**, vivendo no ambiente e raramente causando problemas de saúde
- Aqui falaremos de *Acanthamoeba*



Histórico

- **1755** - primeira ameba de vida livre descrita (“small proteus”)
- **1849** - primeira ameba encontrada em humanos, *Entamoeba gingivalis*
- **1873** - descoberta da disenteria amebiana e de *Entamoeba histolytica*
- **1930** - descrita *Hartmannella castellanii*
- **1931** - renomeada para *Acanthamoeba castellanii*, por Volkonsky
- **1958** - descoberta acidental de que *Acanthamoeba* causa encefalite em animais de laboratório



Histórico

- Testes de segurança da vacina de poliomielite utilizando culturas de células de rim de macaco Rhesus apresentaram placas de lise (típicas de contaminação por vírus)
- Seguindo a rotina padrão de testes, Culbertson inoculou (intravenosa, intracerebral e intranasalmente) camundongos e macacos com o material
- Todos os animais morreram; exames histopatológicos revelaram a presença de ameba de vida livre do gênero *Acanthamoeba* (contaminação por via aérea)
- Demonstração de que AVLs presumivelmente inofensivas podem não ser...
- Culbertson sugere, dada a ampla prevalência dessas amebas no ambiente, a possibilidade de infecção e mesmo desenvolvimento da doença em humanos

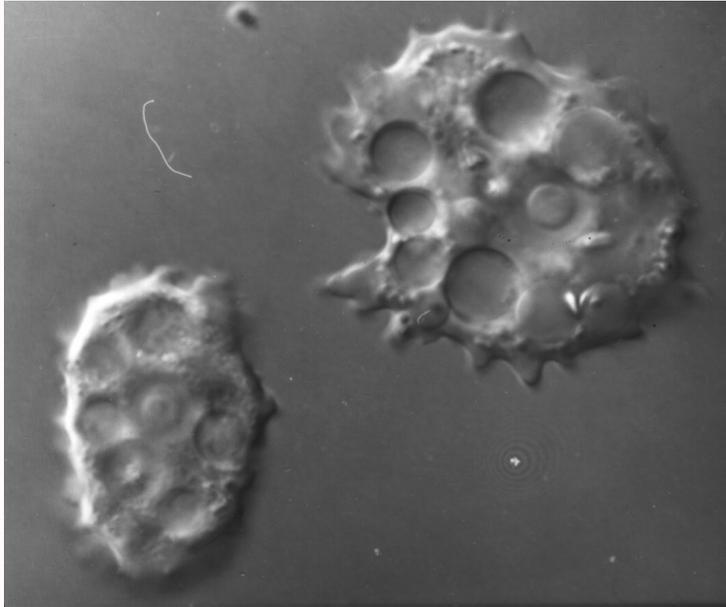


Histórico

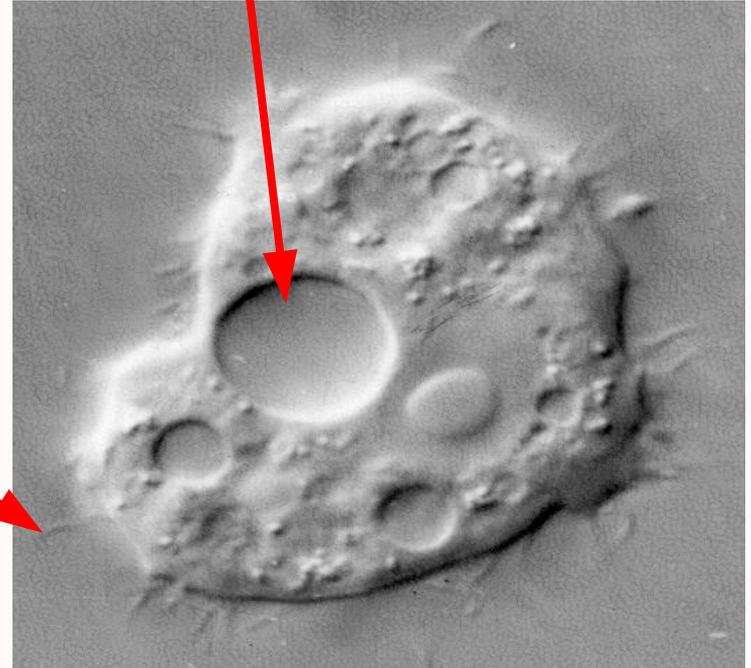
- **1755** - primeira ameba de vida livre descrita (“small proteus”)
- **1849** - primeira ameba encontrada em humanos, *Entamoeba gingivalis*
- **1873** - descoberta da disenteria amebiana e de *Entamoeba histolytica*
- **1930** - descrita *Hartmannella castellanii*
- **1931** - renomeada para *Acanthamoeba castellanii*, por Volkonsky
- **1958** - descoberta acidental de que *Acanthamoeba* causa encefalite em animais de laboratório
- **1965** - primeiro caso descrito de encefalite humana por *Acanthamoeba*
- **1974** - primeiro caso descrito de ceratite por *Acanthamoeba*

O parasita

Fotografias tiradas pela
Profa. Annette S. Foronda



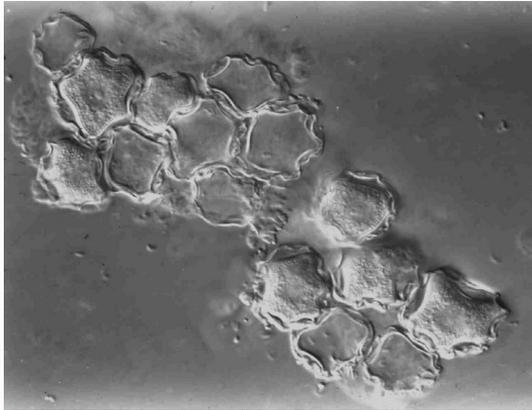
vacúolo contrátil



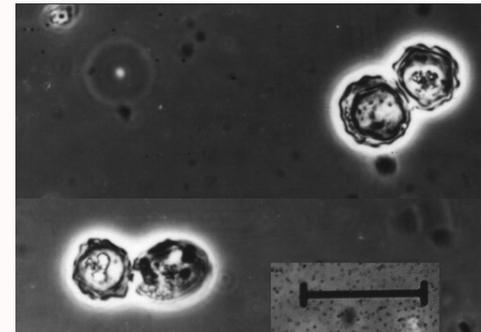
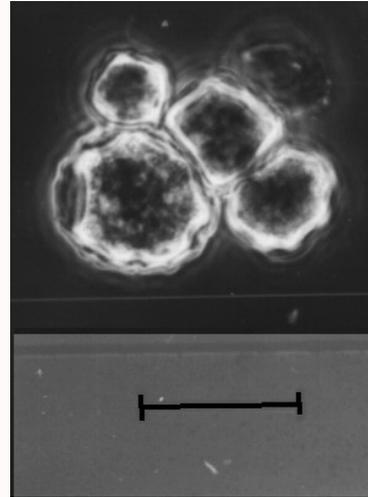
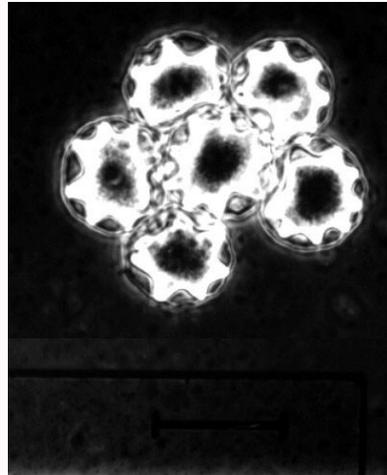
acantopódio

Trofozoítos de *Acanthamoeba*

O parasita



Fotografias tiradas pela
Profa. Annette S. Foronda



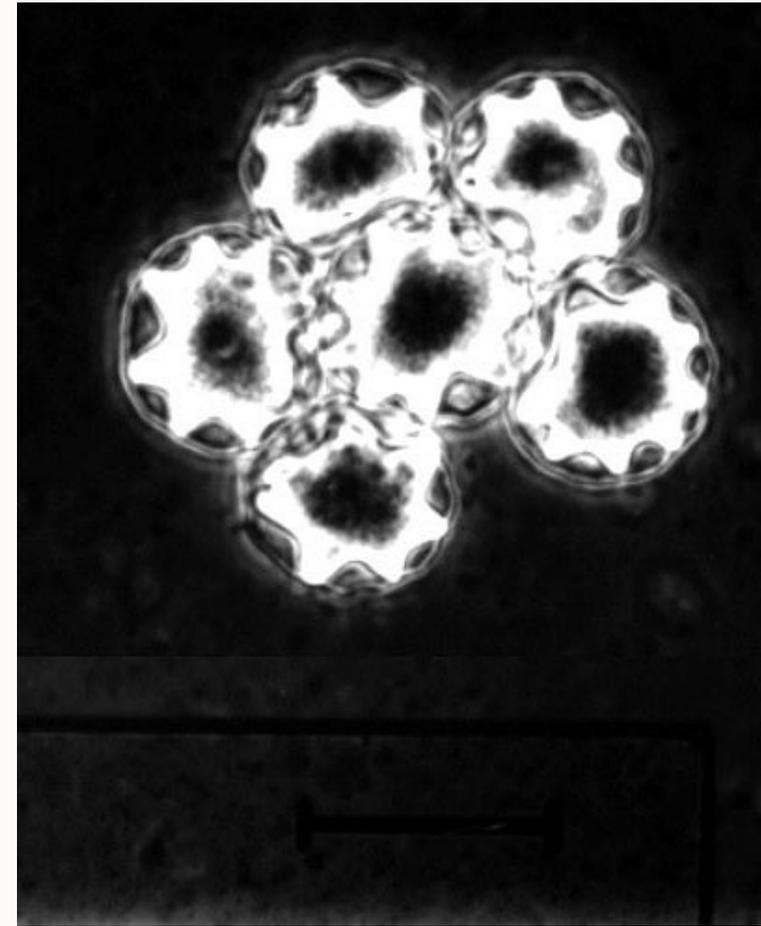
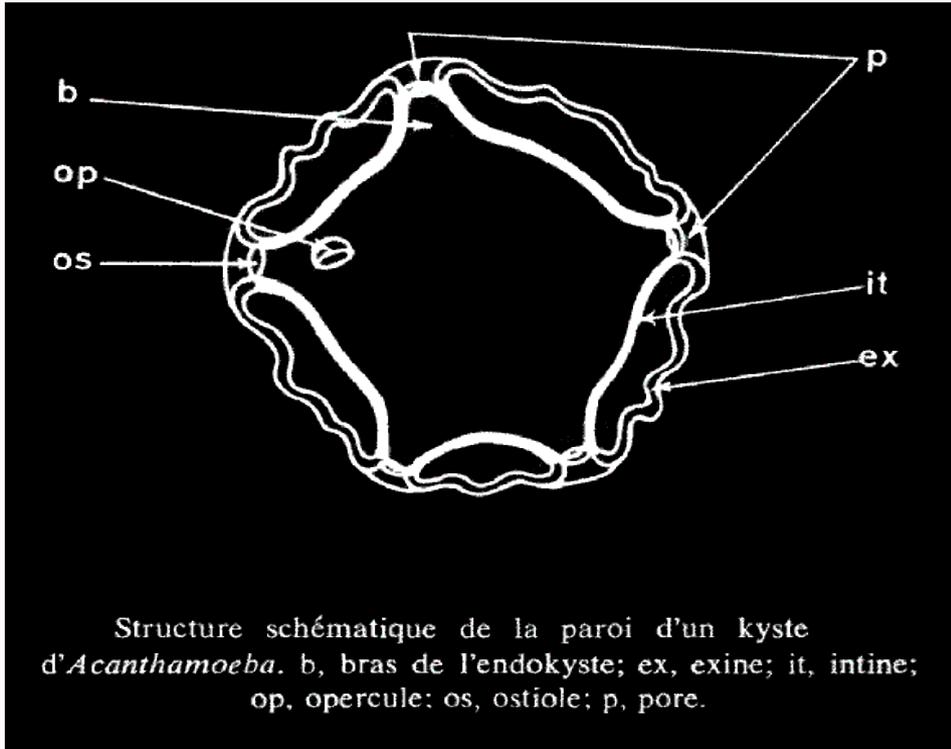
Cistos de *Acanthamoeba*

O parasita

Cariossomo (em *Entamoeba coli*)



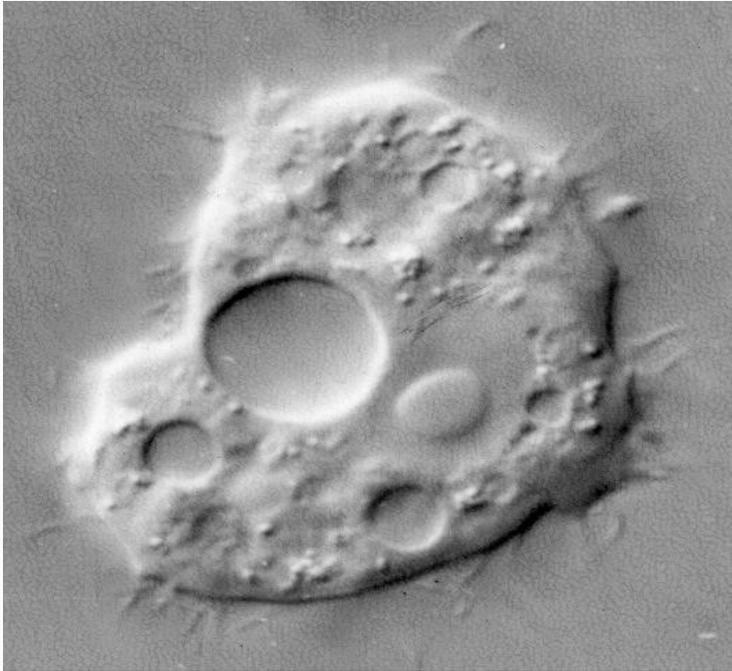
O parasita



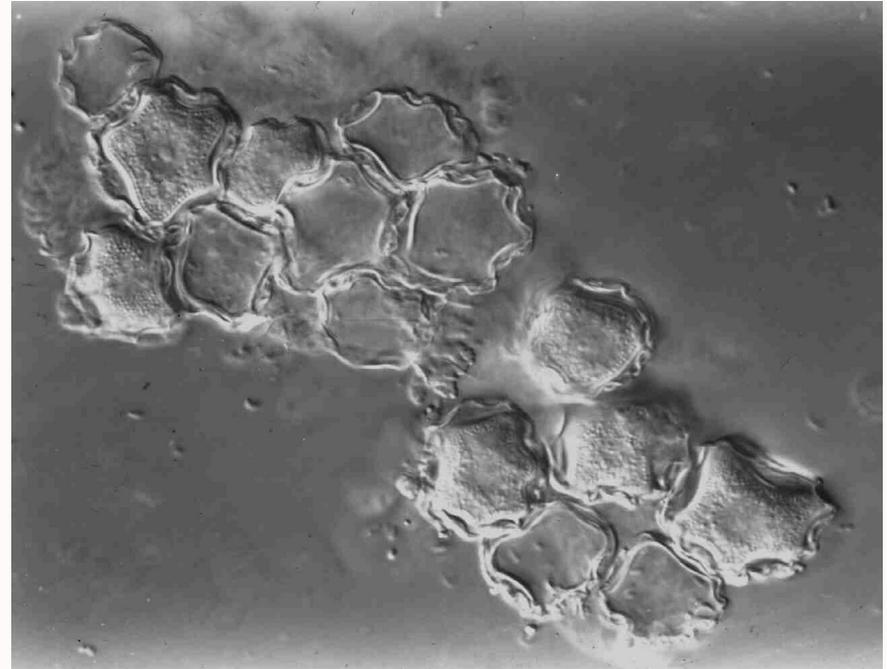
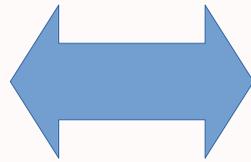
Cistos de *Acanthamoeba*

(glicoproteínas, como lectinas, e carboidratos, como celulose)

Ciclo de vida



Trofozoíto

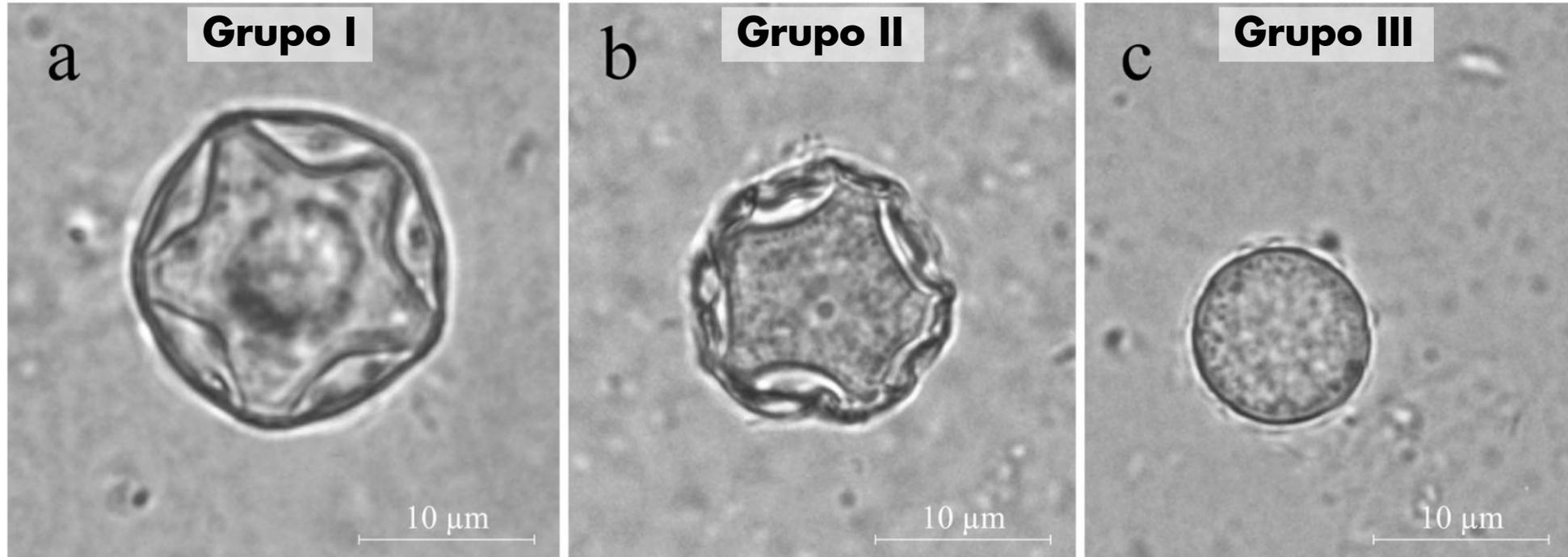


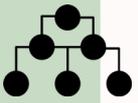
Cisto

O parasita

Grupos morfológicos de *Acanthamoeba*

(grupos não são naturais: polifiléticos)





O parasita

Taxonomia

Super-reino Eukaryota

Grupo Unikonta

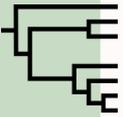
 Filo **Amoebozoa**

Classe Discosea

Ordem Centramoebida

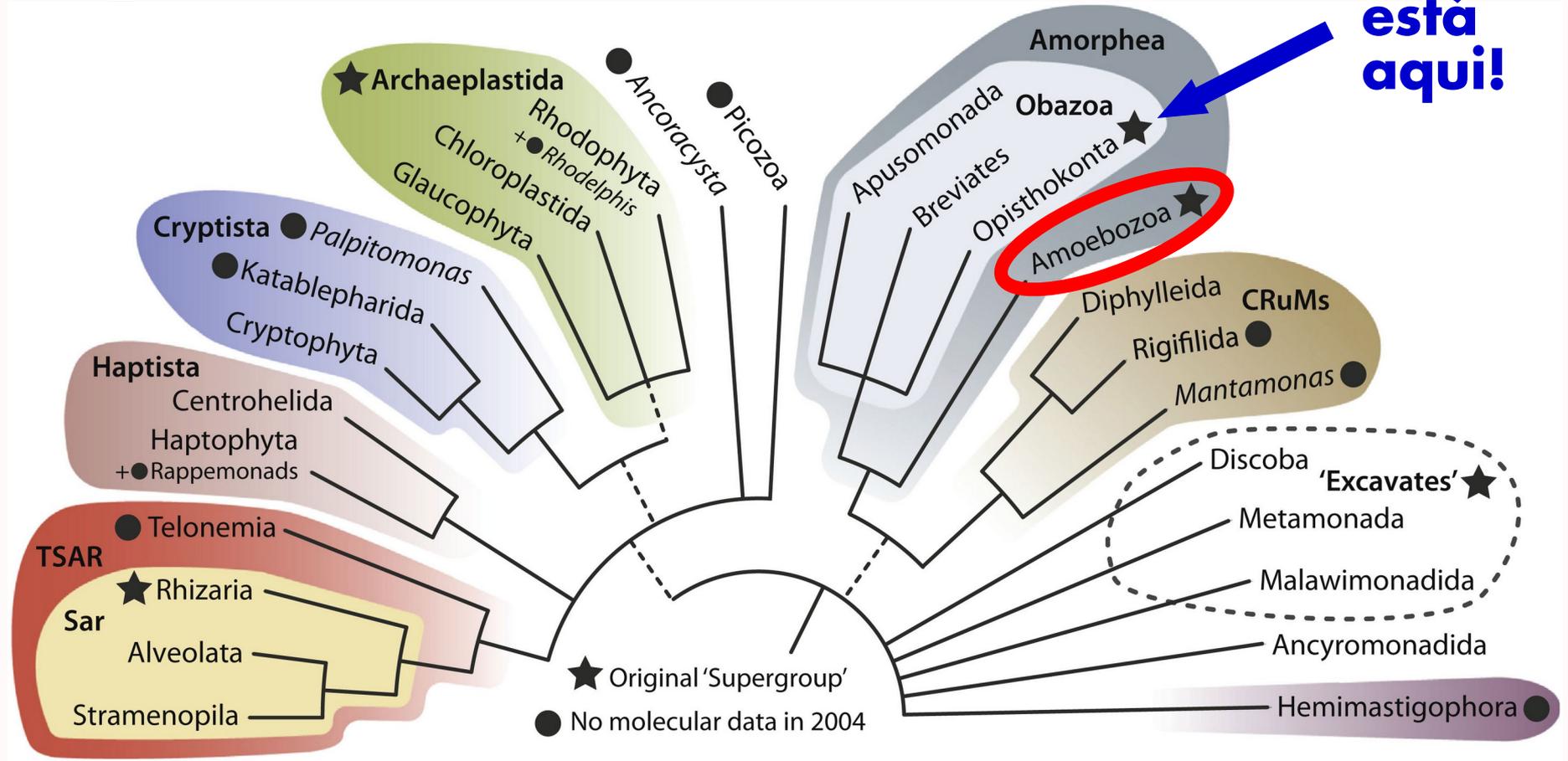
Família Acanthamoebidae

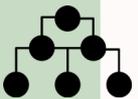
Gênero *Acanthamoeba*



○ parasita

Você está aqui!





O parasita

Cavalier-Smith et al.,
Molecular Phylogenetics
and Evolution (2015) 83:
293–304

LOBOSA

Discosea

Flabellinia

Dactylopodida 1

Vexillifera

Pellitida

Stygamoebida

Trichosida

Vannellida

Himatismenida 2

□ *Cochliopodium*

□ *Ovalopodium*

Longamoebia

Dermamoebida

Centramoebida 1

Thecamoebida 1

Stenamoeba

Tubulinea

Arcellinida

Echinamoebida 1

Nolandida 1

Nolandella

Euamoebida

Leptomyxida

CONOSA

Variosea

Holomastigida

Varipodida 2

Phalansteriida

□ *Filamoeba*

□ *Flamella*

Archamoebae

Mastigamoebida 1

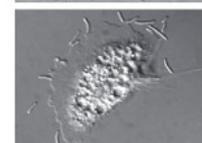
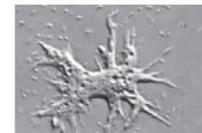
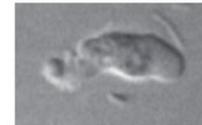
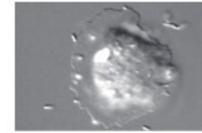
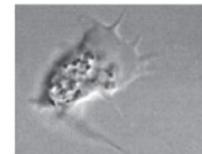
Pelobiontida 4

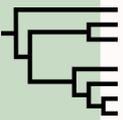
Mycetozoa

Myxogastrea 3

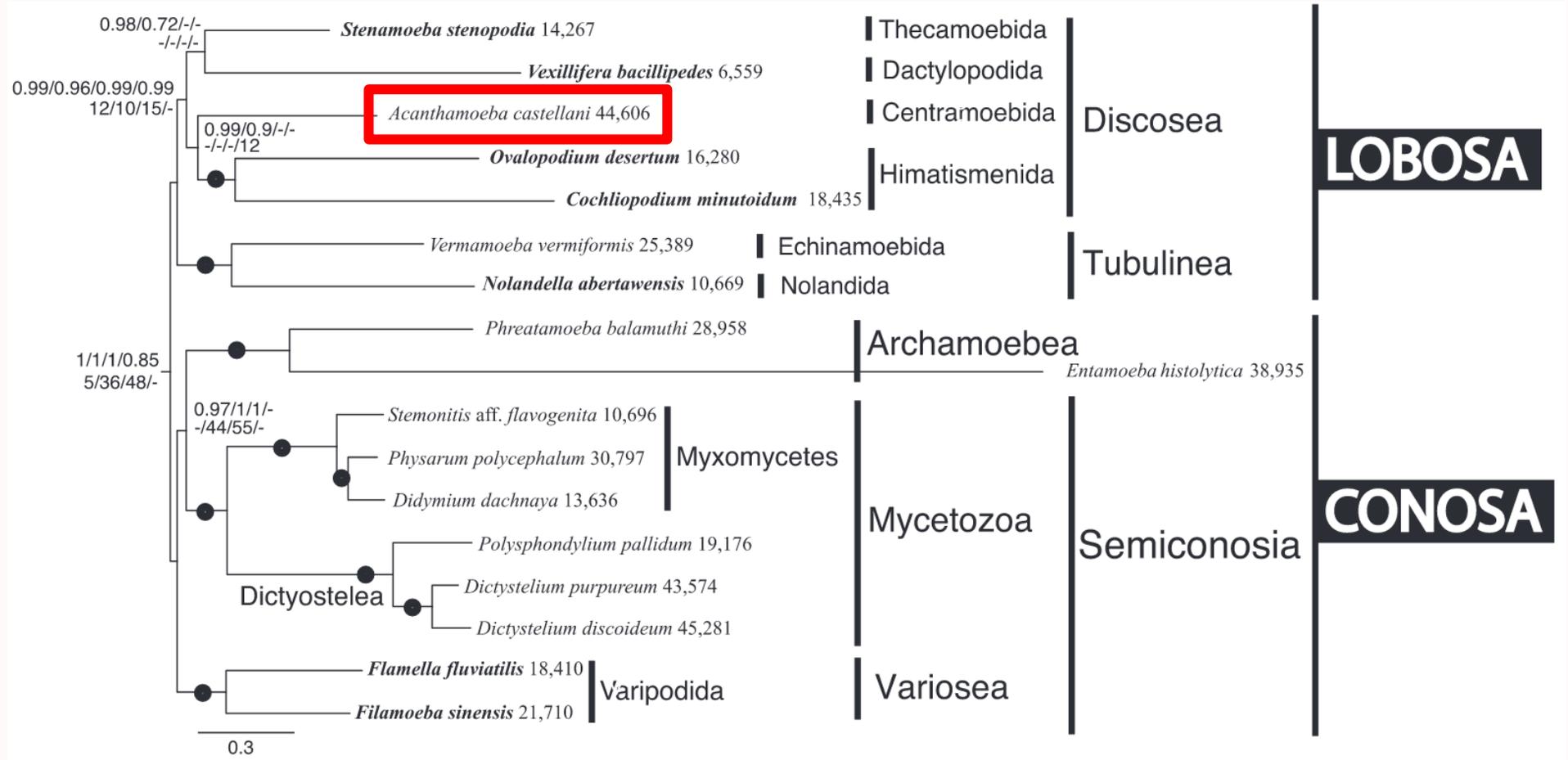
Dictyosteala 6

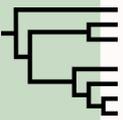
Protosteala



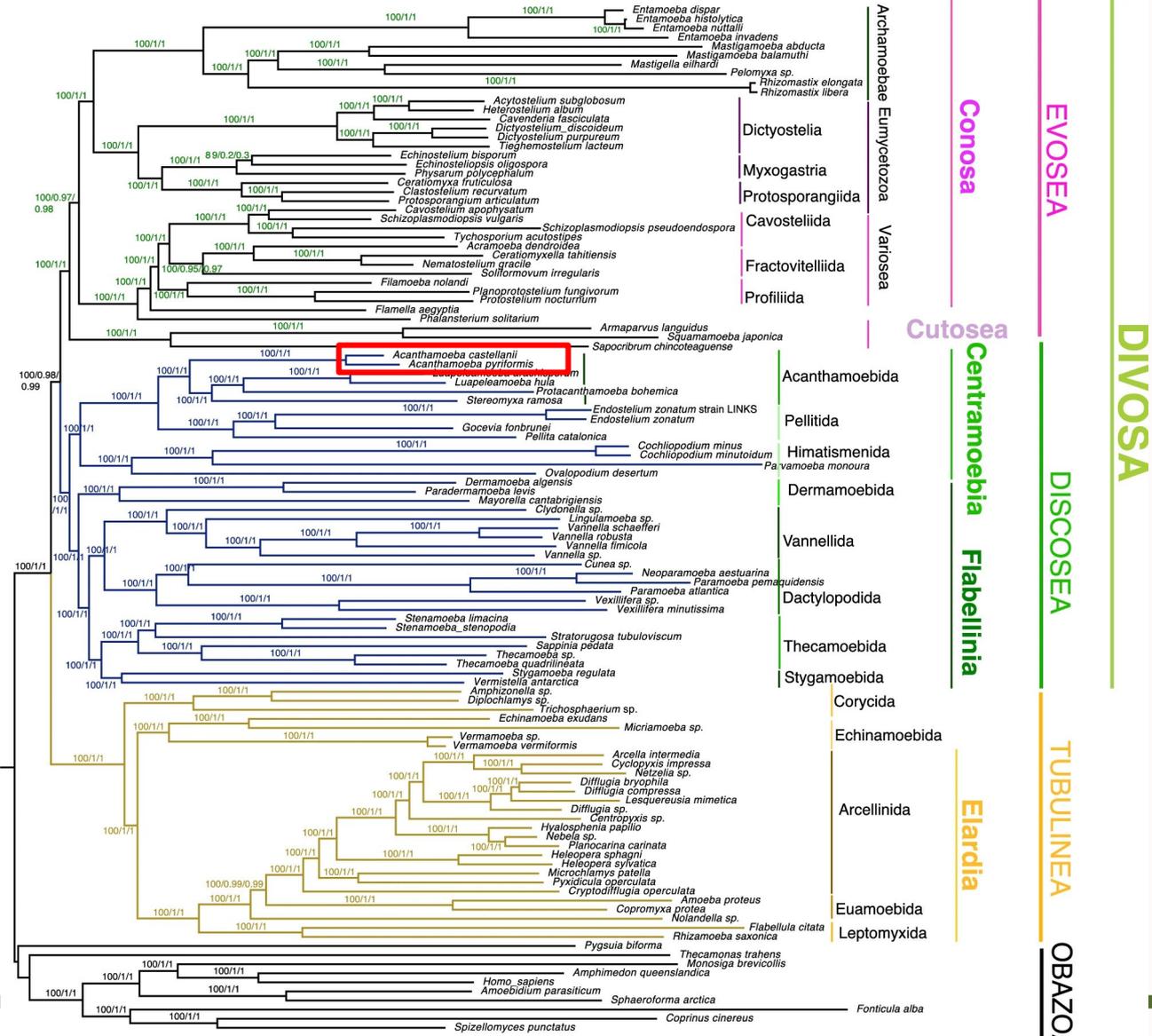


Filogenia

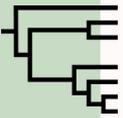




Filogenia

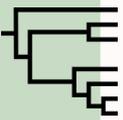


Teckle et al., Scientific Reports (2022) 11173



Classificação

- O esquema moderno (1996/1998) de classificação de *Acanthamoeba* se baseia na sequência do gene para o RNA da subunidade menor do ribossomo
- Tipos de SSU rDNA foram definidos, baseando-se em divergência de sequência e padrão filogenético
- Divergência mínima de 5% entre as sequências completas do SSU rDNA
- Inicialmente, foram determinados 12 tipos de SSU rDNA em *Acanthamoeba*
- Foi sugerido que cada tipo possa ser uma espécie
- Também considerou-se a possibilidade de separar em dois ou mais gêneros (grupo morfológico I muito divergente, morfológica e molecularmente)



Classificação

contagem
das diferenças
par a par

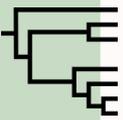


$$\text{Dist\%} = \frac{\text{diferenças}}{\text{total de comparações}}$$

```

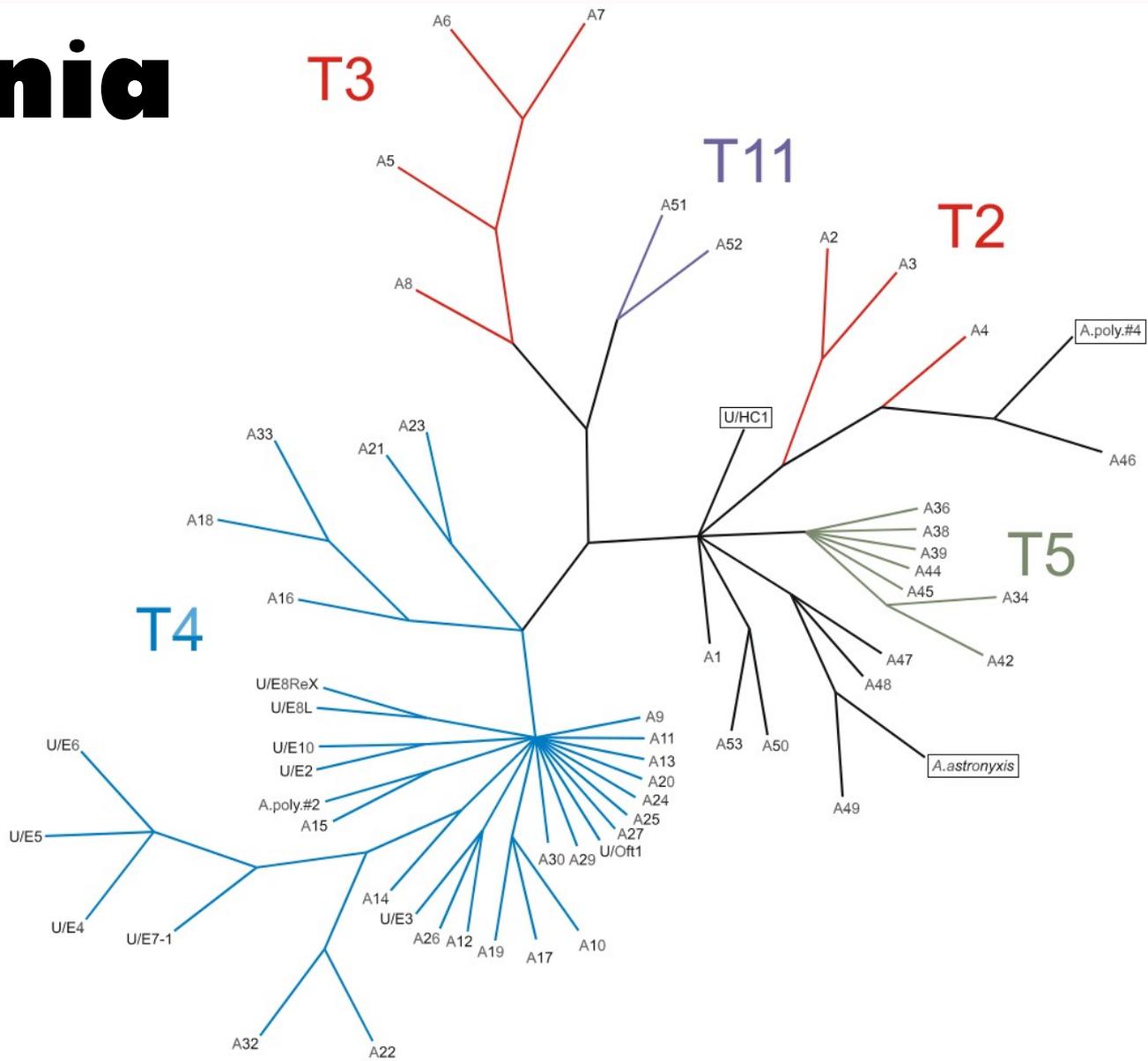
* 1680 * 1700 * 1720 * 1740 * 1760
A9 : CCGTGAATACAAAACACCACCATCGGC---CGGGTCCTCCTTGGGGTC--GGTCCTTAC--GGGGCC--GGCGCACGGGGCCTTAGCCCG-G
A1 : . . . . . A . CCAAT . G . . . . . G . . . . . C . . . . . TTT--C . G . G--A . . . . . AC . . . . . GAA . TG . A . CC . TCT . A . TC . . TGA
A2 : . . . . . ACATAATTCA . TA . A . GGCCA-----GTCAAA . . AT . TTGCTATTTGTT . TG-----
A3 : . . . . . ATATAATTCA . TA . A . GGCCA-----GTCAAA . . AT . TTGCTATTTGTT . TG-----
A4 : . . . . . TT . ATATAATTCAATATA . GGC . T-----A . . . . . C . CTGAT . TTTGTT . TA--TAA . . . . .
A5 : . . . . . GC . . ATT . . . . . T . . . . . T . . . . . C-----A . . . . . A . C . G . A-----GC . . . . . T . CA
A6 : . . . . . GC . . ATT . . . . . T . . . . . T . GTC-----A . . . . . A . C . G . ATCAT--G . A . . . . . T . CA
A7 : . . . . . GC . . ATT . . . . . T . . . . . T . . . . . C-----A . . . . . A . C . G . AT-----G . A . . . . . T . CA
A8 : . . . . . GC . . ATT . . . . . T . . . . . T . CA-----C . . . . . AGCCAT . T . TGCT . . ATCC . AT . . . . . T . CA
A10 : . . . . . T . . . . . TC . . . . . T-----GC . . . . . T . G . A-----
A11 : . . . . . TGTCC . T . . . . . AC . . . . . G . A-----T . . . . .
A12 : . . . . . T . . . . . T-----AA . A-----A . . . . . G . T-----
A13 : . . . . . T . . . . . T-----C-----
A14 : . . . . . T . . . . . T-----TC . . . . . T-----GC . . . . . G . A . T-----
A15 : . . . . . T . . . . . T-----T-----G-----
A16 : . . . . . GTCTCGG . . . . . CTGGGGC . . . . . T-----
A17 : . . . . . T . . . . . TC . . . . . T-----GC . T . G . A-----
A18 : . . . . . GTCTCGG . . . . . CCGGGCC . . . . . T-----
A19 : . . . . . T . . . . . TC . . . . . T-----GC . T . G . A-----
A20 : . . . . . T . . . . . T-----G . A-----
A21 : . . . . . TC . . . . . G-----CACG-A-----A-----
A22 : . . . . . T . T-----TC . . . . . T-----GC . G . AT-----
A23 : . . . . . TC . . . . . G-----CACG-A-----T-----A-----
A24 : . . . . . T-----T-----G . T-----
A25 : . . . . . T-----TC-----GC . G . T-----
A26 : . . . . . T-----CGTT-----AA . A-----AGC . G-----
A27 : . . . . . T-----T-----G . A-----
A . poly . #2 : . . . . . T-----TT-----C-----
U/E2 : . . . . . GGTCTT-----C . GGCC-----
U/E3 : . . . . . T-----GT-----AA . A-----G . T-----
U/E4 : . . . . . T . T-----TC . T . TT-----C . CG . GC-----G . AT-----
U/E5 : . . . . . T . T-----TC . TT-----C . GC-----G . AT-----
U/E6 : . . . . . T . T-----TC . TT-----C . GC-----G . AT-----
U/E7-1 : . . . . . T . T-----TC . TT-----C . GC-----G . AT-----
U/E8L : . . . . . TCT-----C . A . CCA . R-----
U/E8ReX : . . . . . TC-----GC-----G-----
U/E10 : . . . . . GGTCTT-----C-----GC-----
U/Oft1 : . . . . . T-----TC . TT-----C-----G . AT-----
A29 : . . . . . TC-----GC-----G-----
A30 : . . . . . TC-----GC-----G-----
A32 : . . . . . T . T-----TC . . . . . T-----GC-----G . AT-----
A33 : . . . . . GTCTCGG . . . . . CCGGGCC . . . . . T-----
U/HCl : . . . . . GCGGGT . TC . C . GGCC . T . . . . . GTCCGT . GCGG . AACGC . C . GGCC . C . GTG . GC . G . CC . TTTCCC
A34 : . . . . . C . TG . TAATCCTTT . GC-----A-----
A36 : . . . . . C . G . TAATCCTTT . GC-----A-----
A38 : . . . . . C . TG . TAATCCTTT . GC-----A-----
A39 : . . . . . C . G . TAATCCTTT . GC-----A-----
A42 : . . . . . C . TG . TAATCCTTT . GC-----A-----
A44 : . . . . . C . G . TAATCCTTT . GC-----A-----
A45 : . . . . . C . TG . TAATCCTTT . GC-----A-----
A . poly . #4 : . . . . . C . T . AA . ATAATTCATTATA . GGC . TCACGGCT . TA-----TA . TG . TTCT . TT-----
A46 : . . . . . T . T . ATA . AATICA . TATA . GC . CA-----C . . . . . AT . TTGATATTTGTT . TA--TA-----
A . astronomy : . . . . . C . CCGGACTGG . CCGGG . . . . . AGAGTCCCT . G . GGTG . CCG . . . . . CTG . . . . . TAG . CTCTGTG . CTTT . CCT . G . GC--CT
A47 : . . . . . C . CCGACTGGC . TCGG . . . . . G . A . TT . . . . . CT . TCG . TCG . CCA-----C . . . . . GGCC . AATGT . T . CCT . TTGGC . CT
A48 : . . . . . C . CCGACTGGC . TCGG . . . . . G . C . C . CT . TCG . CCA-----C . . . . . AGCC . A-----CT . TTGGC . CT
A49 : . . . . . C . CCGGCTGG . CC . AT . . . . . G . AGAGTCCCT . G . GGTG . CCG . . . . . TG . . . . . T . G . CTCTGGCCTTT . CCT . G . GGC . CT
A50 : . . . . . T . CATTAGCA? . CTCGTT . T . CAAATA . TCCTT . TTGGC . AG . . . . . GTT . T--TT-----CAACCA . T . CCT . . . . . T . A
A51 : . . . . . T-----ACGTC . TGG . G . A-----CCATGG . C . . . . . AT . . . . . T . A
A52 : . . . . . T-----CGTC . TGG . . . . . CTG . GGC . T . . . . . T . . . . . T . A
A53 : . . . . . TAA . ACGAT . T . TT . TGCAATA . GCCACATGGC . . . . . AG . . . . . T . T . TGCTT . TGTTTCAA . GAA . GATTGCTTT

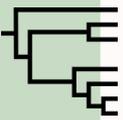
```



Phylogenia

2001





Filogenia

Corsaro, Parasitology Research (2020) 119:3327–3338

22 tipos de SSU rDNA

(em 2020)

nDNA
18S rDNA



2021

scientific reports

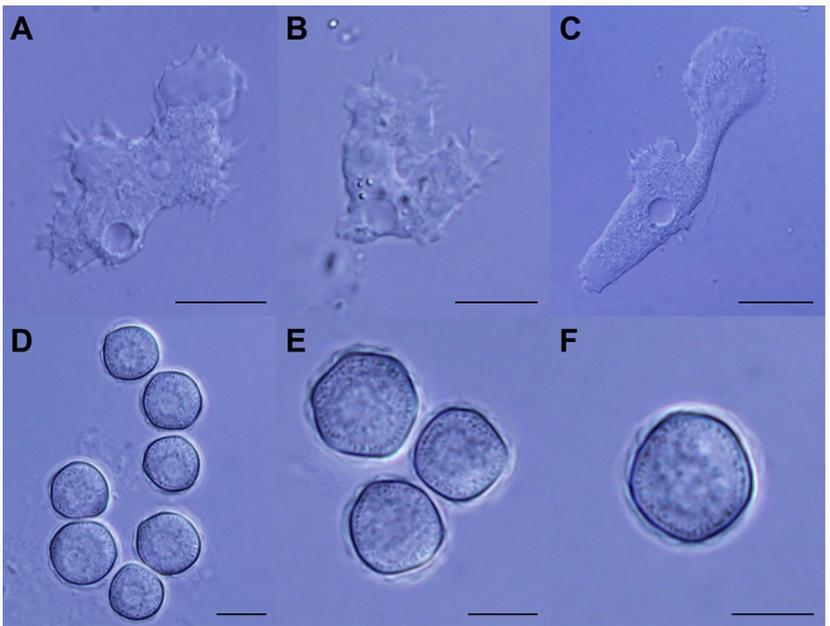
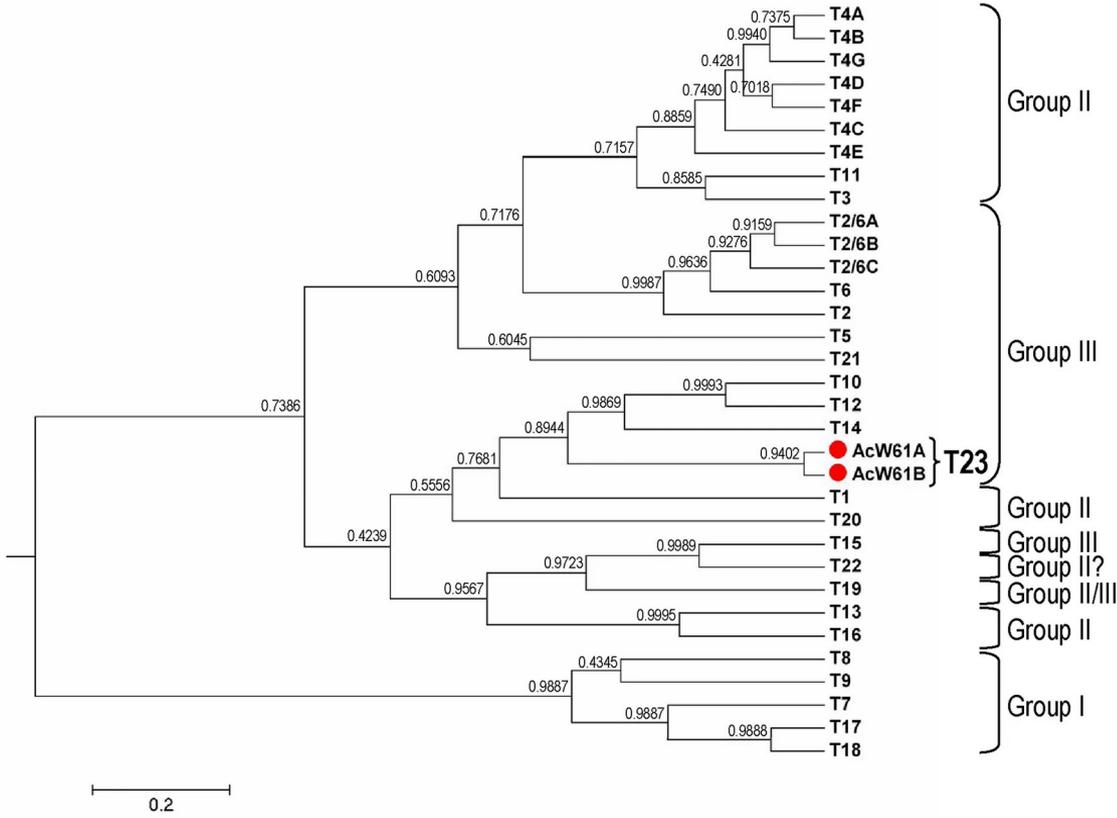
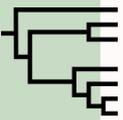


OPEN

Analysis of *Acanthamoeba* genotypes from public freshwater sources in Thailand reveals a new genotype, **T23** *Acanthamoeba bangkokensis* sp. nov.

Chaturong Putaporntip, Napaporn Kuamsab, Warisa Nuprasert, Rattanaporn Rojrung, Urassaya Pattanawong, Taweesak Tia, Surasuk Yanmanee & Somchai Jongwutiwes✉

A survey of *Acanthamoeba* in 100 public freshwater sources in 28 provinces across Thailand has identified 9 genotypes comprising T2/6, T3-T5, T9, T11, T12, T18 and a novel 'T23' among 131 isolates. Sequencing of the near complete 18S rRNA gene of *Acanthamoeba* of all isolates has shown that the most predominant genotype T4 found in 87 isolates (66.4%) contained 4 subtypes, i.e. T4A, T4B, T4C and T4F, while all isolates assigned to genotype T2/6 belonged to subtype B. Among intron-bearing genotypes, most isolates harbouring genotype T3 contained S516 introns, characterised by



Epidemiologia

- Organismos do gênero *Acanthamoeba* vivem em uma **grande variedade** de ambientes, já tendo sido isolados de solo, poeira, sedimentos marinhos, condicionadores de ar, água doce (piscinas, lagos, garrafas de água mineral) ou marinha, esgoto, ar e etc.
- Encontrados no **mundo todo**, do lago Titicaca à Antártida, de águas congeladas da Noruega à lama termal de um spa na Itália, da Nova Zelândia à Costa Rica...



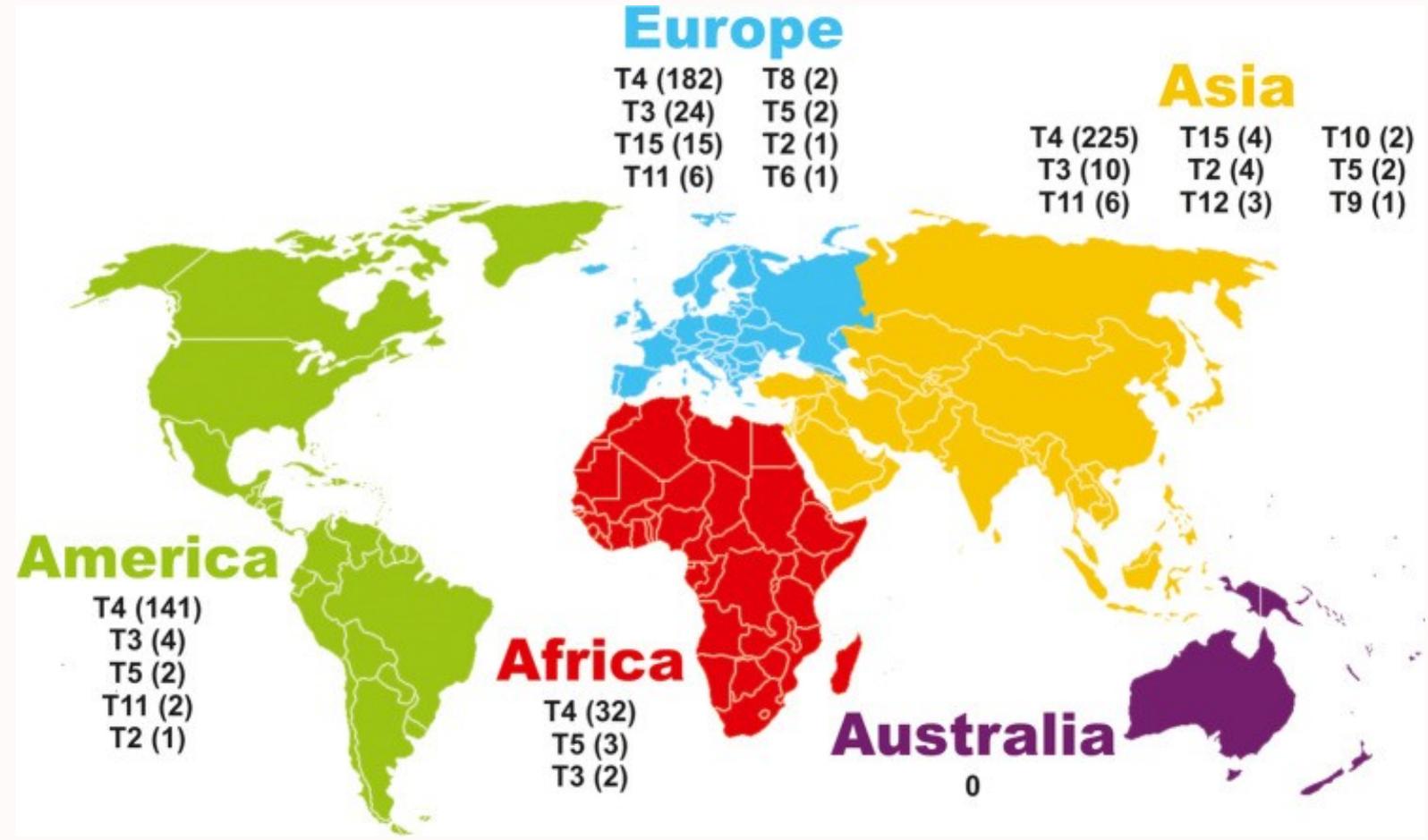


Epidemiologia

- Além disso, já foram encontrados vivendo em uma grande variedade de **organismos**, como mamíferos (humanos, cães, gado, macacos, cangurus, etc.), aves, peixes, moluscos e insetos
- Em humanos, costuma estar nas vias aéreas superiores e intestinos de pessoas saudáveis, sendo que um estudo encontrou **anticorpos** anti-*Acanthamoeba* em 50% dos indivíduos

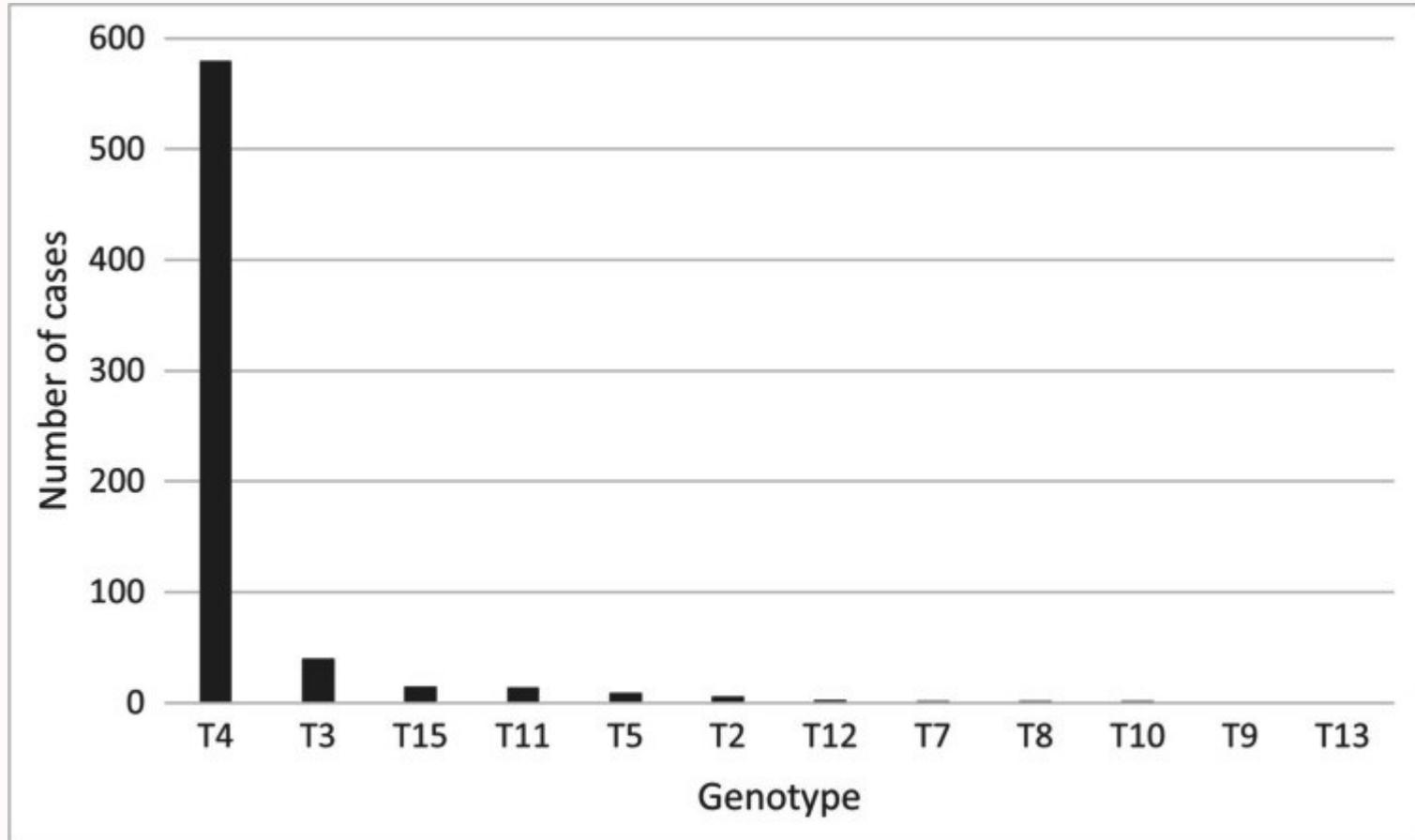


Epidemiologia





Epidemiologia





A doença

- *Acanthamoeba* pode causar dois tipos de doenças
- **Úlcera de córnea** ou ceratite amebiana
- **Encefalite** amebiana granulomatosa (EAG)
- Também já se encontrou *Acanthamoeba* em diversos outros tecidos, sempre como infecção **oportunista**:
 - pele
 - ouvido
 - pulmão
 - fígado
 - pâncreas
 - glândula adrenal
 - baço
 - rim
 - próstata
 - tireoide
 - seio etmoide
 - linfonodos
 - caixa torácica
 - úlcera péptica
 - trato urogenital masculino

Ceratite amebiana



Patologia

- A ceratite amebiana tem como pré-condição um **trauma** que cause abrasão
- Pode ser um ferimento ou, mais comumente, **lentes de contato**



Fig. 3 – O tipo de higiene das lentes de contato associado a alto risco de contaminação por *Acanthamoeba*. Reproduzido com permissão do autor.



Patologia

- A ceratite amebiana tem como pré-condição um **trauma** que cause abrasão
- Pode ser um ferimento ou, mais comumente, **lentes de contato**
- Sintomas: ulceração da córnea, irite, muitas vezes esclerite, dor intensa e acentuada perda de visão
- A dor é **desproporcional** à lesão
- O quadro clínico mostra infiltrados epiteliais que podem coalescer e formar anéis centrais ou paracentrais



Patologia

- Em alguns casos, há **ciclos** de remissão e recrudescência (encistamento e desencistamento das amebas)
- Embora associada ao uso de lentes de contato e outras fontes de lesão da córnea, a ceratite **pode ocorrer** em indivíduos sem nenhum outro problema de saúde prévio conhecido
- Certas espécies de *Acanthamoeba* parecem ter maior propensão a causarem doenças –parasita em transição?

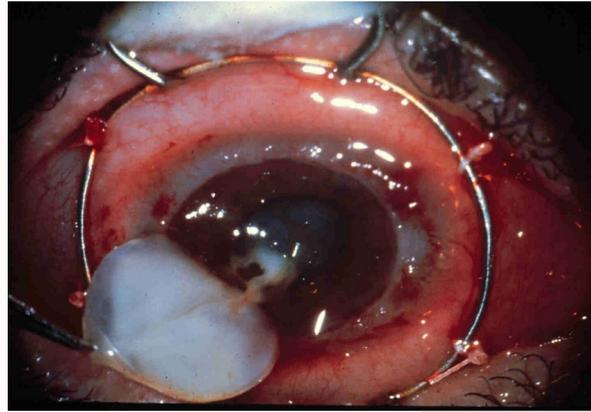
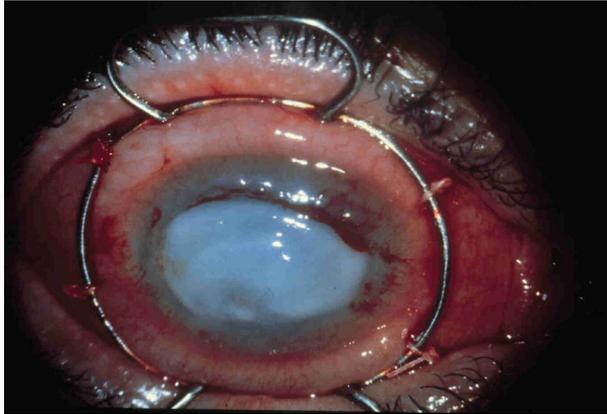


Diagnóstico

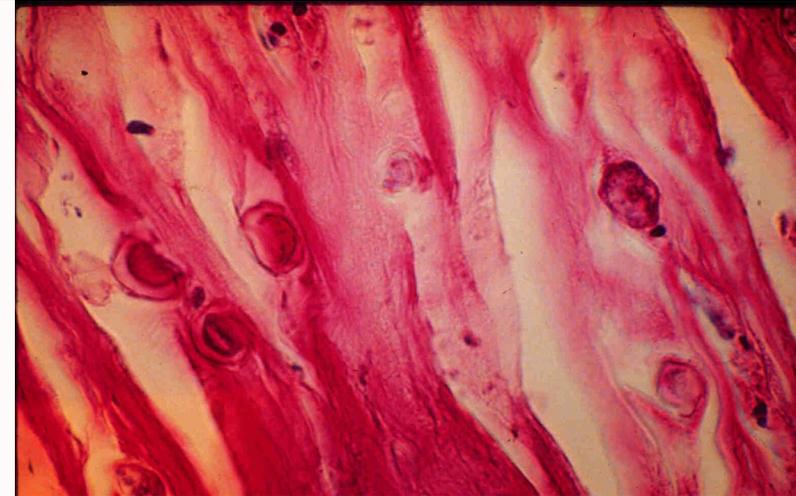
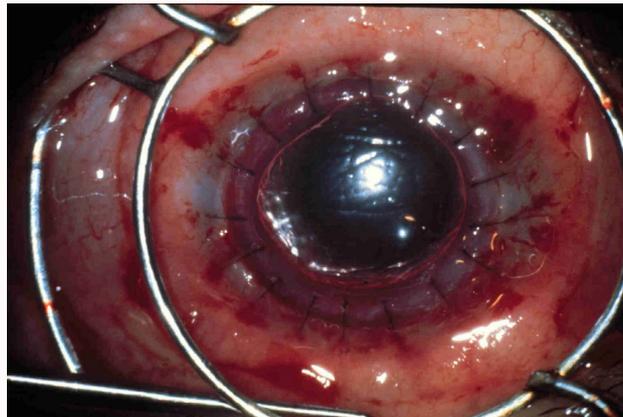
- O diagnóstico da ceratite amebiana é feito **observando-se a ameba** (cisto ou trofozoíto) em raspado de córnea ou algum outro tipo de biópsia da córnea
- O material é colocado em meio de cultura para o crescimento e caracterização das amebas em maiores detalhes
- Como os sintomas são genéricos e a doença pouco conhecida, o diagnóstico correto (e portanto o tratamento) costuma **demorar** a ser alcançado
- Com isso, é frequente a necessidade de se fazer **transplante de córnea ou até mesmo remoção do olho afetado** devido a recidivas repetidas



Transplante de córnea



Corte de estroma mostrando cistos

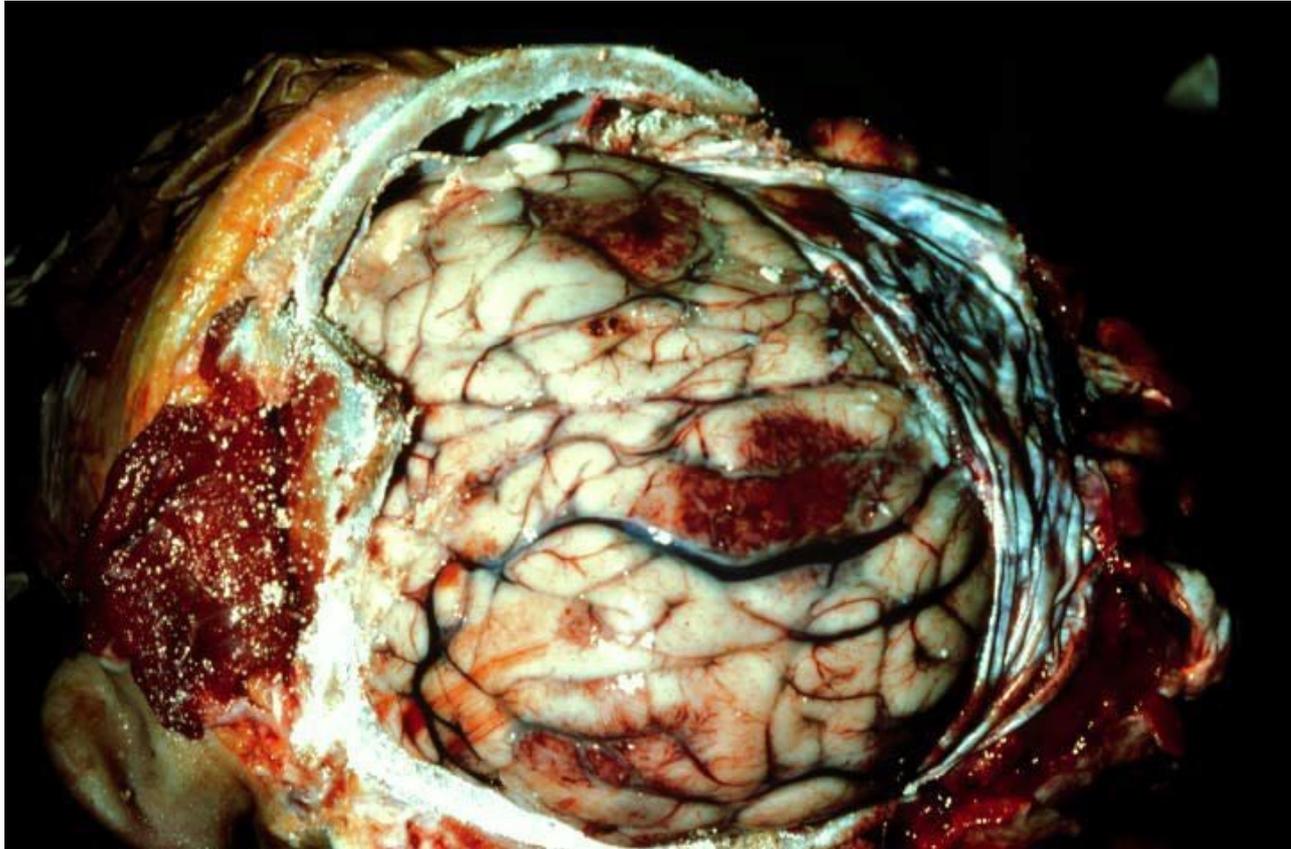




Tratamento

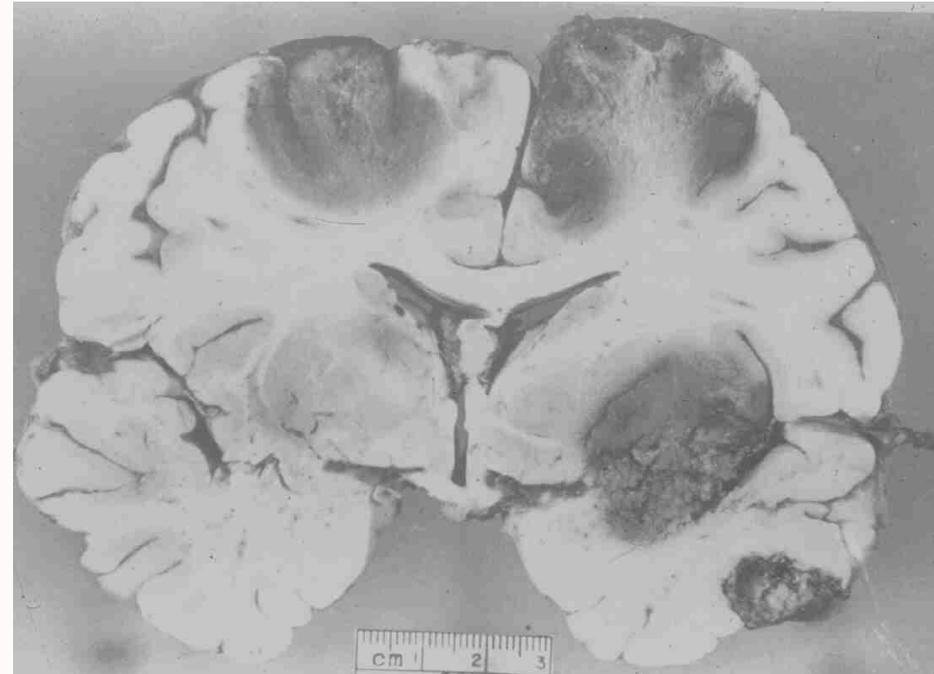
- A ceratite amebiana é tratada utilizando-se agentes antissépticos e diamidinas aromáticas
- A primeira escolha é o colírio de poli-hexametileno de biguanida a 0,02%
- Deve ser aplicado de hora em hora, **dia e noite**, nos três primeiros dias
- Após isso, de hora em hora em vigília, com a frequência diminuindo conforme a evolução do quadro clínico
- Raramente se usam também antifúngicos (tópicos ou sistêmicos) como cetoconazol (400 mg/dia) ou itraconazol (200 mg/dia, via oral)

Encefalite





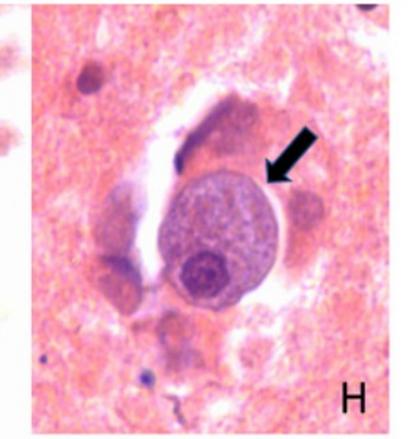
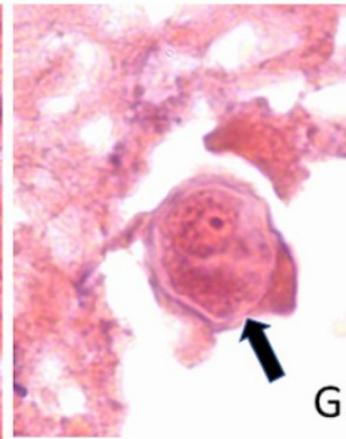
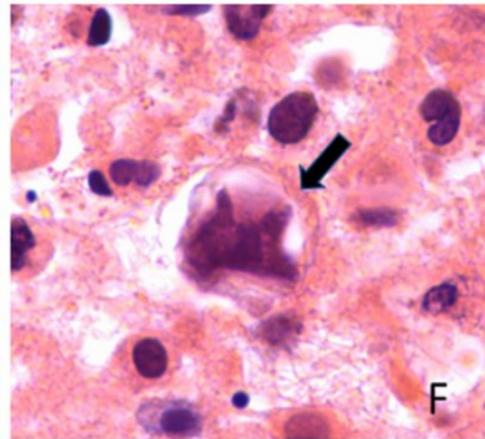
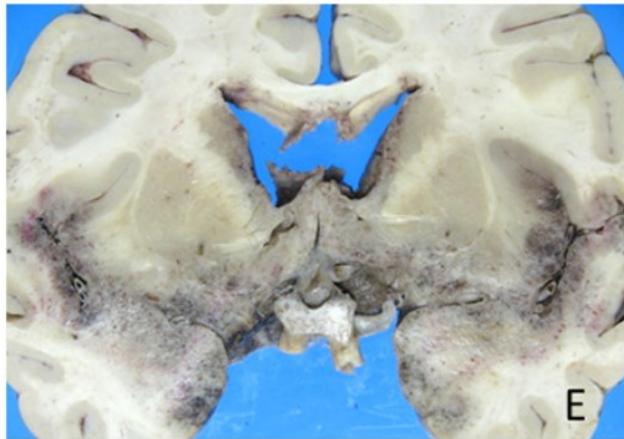
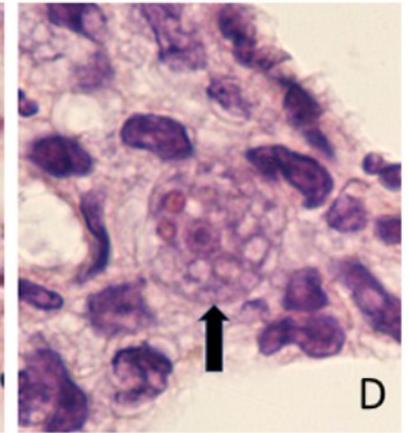
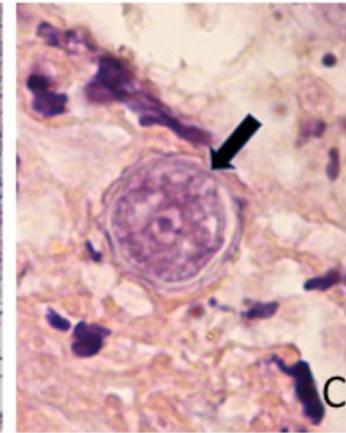
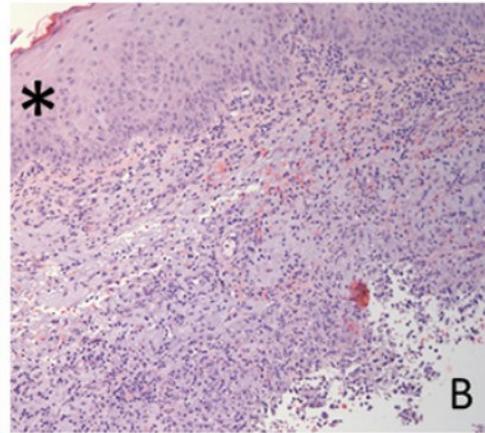
Encefalite



Patologia

- A encefalite amebiana granulomatosa é **quase sempre fatal**
- Se inicia quando a *Acanthamoeba* entra no sistema nervoso central, provavelmente por **via nasal** (nervo olfativo)
- Só ocorre em indivíduos com **comprometimento imunológico severo**, diferentemente da ceratite
- Não há experiência suficiente em tratamento
- Se identificada precocemente e a lesão for superficial e única, pode ser feita cirurgia –mas isso é raramente o caso: lesões múltiplas e profundas

Patologia



Diagnóstico

- O diagnóstico da encefalite amebiana granulomatosa é quase sempre em autópsia
- Pode ser identificada em exames de imagem como tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética –mas os achados não são específicos





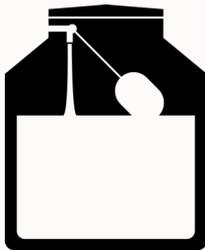
E tem mais!

- *Acanthamoeba*, como outras amebas de vida livre, está sempre fagocitando outros organismos
- Alguns deles “aprenderam” a resistir à lise e usar a ameba como um **reservatório**, para disseminação e proteção
- Protozoários, vírus e bactérias
- Doença dos legionários: *Legionella pneumophila* (surto em uma convenção da American Legion, em 1976, com pelo menos 182 casos e 29 mortes)
- Limpeza de sistemas de ar condicionado e evitar acúmulo de água parada nesses sistemas



Prevenção e controle

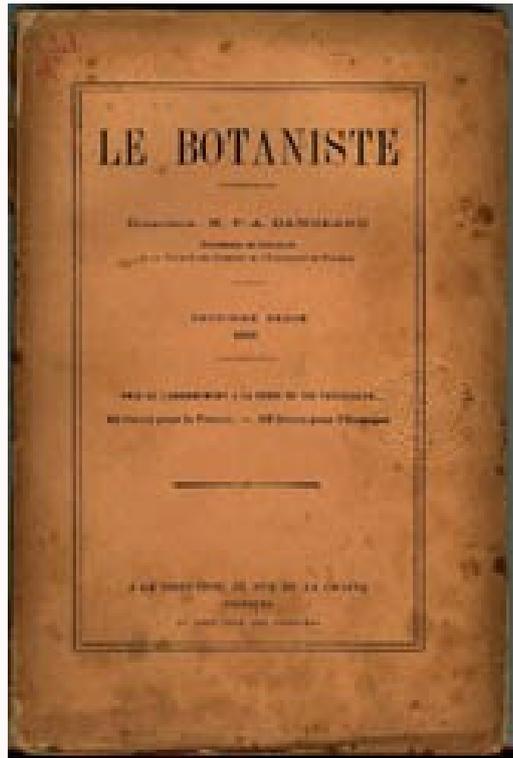
- A ceratite pode ser prevenida principalmente com **higiene**
- É importante **nunca** usar soluções salinas caseiras para limpeza das lentes de contato
- Manter limpas caixas d'água e ambientes onde se manuseiam as lentes, como pias
- Manter limpas as caixinhas onde são guardadas as lentes de contato
- Evitar fazer atividades recreativas usando lentes de contato
- Proteger os olhos ao **trabalhar com plantas**





Recapitulando

- As doenças causadas por amebas de vida livre são **relativamente raras** e, por isso, pouco conhecidas da comunidade médica (subnotificação)
- Por isso, é comum o diagnóstico demorar, atrasando o tratamento
- Com isso, não há cura para a encefalite amebiana granulomatosa causada por *Acanthamoeba*, o que quase sempre leva à **morte**
- A ceratite ou úlcera de córnea amebiana é bem mais comum, mas ainda assim pouco conhecida; tem tratamento, se diagnosticada cedo
- Frequentemente leva ao **transplante de córnea**, mas as amebas podem se abrigar, encistadas, no estroma e posteriormente afetar a nova córnea



Dangeard, P.A., 1900

Rien n'est plus difficile, en effet, que de déterminer une amibe.



Fig. 3 – O tipo de higiene das lentes de contato associado a alto risco de contaminação por *Acanthamoeba*. Reproduzido com permissão do autor.