



Enfermedades por amebas de vida libre

Free-living amoeba diseases



¹Dra. Carolina Rojas Vargas

Clínica Marcial Rodríguez Conejo, Alajuela, Costa Rica

 <https://orcid.org/0000-0001-8962-970X>

Recibido
01/08/2021

Corregido
10/08/2021

Aceptado
20/08/2021

RESUMEN

Las amebas de vida libre se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, algunos géneros han tomado gran relevancia en la salud humana, causando infecciones del sistema nervioso central. Dentro de este grupo están: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* y *Sappinia*; capaces de producir en el ser humano distintas enfermedades, desde cuadros agudos y fatales, a enfermedades crónicas con una reacción inflamatoria granulomatosa. El diagnóstico temprano es desafiante pero crucial para lograr un resultado favorable, el cual depende principalmente de dos variables: la familiaridad del médico con la sintomatología y el tratamiento de estas infecciones, y de una muestra clínica adecuada para su diagnóstico rápido y definitivo.

PALABRAS CLAVE: *Naegleria fowleri*; *Achantamoeba*; *Balamuthia mandrillars*; meningoencefalitis; queratitis.

ABSTRACT

Free-living amoebas are widely distributed in nature, some genera have taken great relevance in human health, causing infections of the central nervous system. Within this group are: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* and *Sappinia*; capable of producing different diseases in humans, from acute and fatal cases, to chronic diseases with a granulomatous inflammatory reaction. Early diagnosis is challenging but crucial to achieve a favorable outcome, which depends mainly on two variables: the physician's familiarity with the symptoms and treatment of these infections, and an adequate clinical sample for their rapid and definitive diagnosis.



KEYWORDS: *Naegleria fowleri*; *Acanthamoeba*; *Balamuthia mandrillaris*; meningoencephalitis, keratitis.

¹Microbióloga y Química Clínica, graduado de la Universidad de Costa Rica (UCR). Cód. [MQC-1607](#). Correo: crova10@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las amebas de vida libre (AVL) son un grupo de protozoarios que no necesitan de un organismo hospedero para completar su ciclo de vida, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, en fuentes de agua tanto naturales como artificiales, en suelos y en la vegetación; algunos géneros han tomado gran relevancia en la salud humana, causando infecciones del sistema nervioso central. Dentro de este grupo están: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* y *Sappinia*, capaces de producir en el ser humano distintas enfermedades; desde cuadros agudos y fatales a enfermedades crónicas con una reacción inflamatoria granulomatosa (1,2).

Las infecciones por AVL se han descrito desde los años sesenta, antes se creía que estas amebas no eran patógenas, pero en el año 1958, Culbertson demostró el potencial patógeno de la *Acanthamoeba* tras inocularla para inducir encefalitis en ratones. En Tucson, Arizona, se describió el caso de una niña de 6 años que falleció debido a una lesión cerebral, la cual fue atribuida inicialmente a *Iodamoeba bustchlii*, pero después de otros estudios se determinó que fue causada por una ameba del género *Acanthamoeba*. El primer caso de *Naegleria fowleri* (*N. fowleri*) fue descrito en 1965 por Malcolm Fowler y Rodney Carter, en Australia, se trató de meningitis fatal, cuya etiología fue inicialmente confundida con *Acanthamoeba* sp, pero luego se clasificó como una ameba del género de *Naegleria* (3).

Las infecciones por *Acanthamoeba* y *Balamuthia mandrillaris* (*B. mandrillaris*)

pueden presentarse como una encefalitis amebiana granulomatosa (EAG), o queratitis ocular. Mientras que *N. fowleri* es capaz de producir una meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), una infección fatal del cerebro, donde su diagnóstico suele ser difícil dada su similitud con las meningitis bacterianas y virales (4). Estas amebas representan un alto riesgo para la salud humana, en Costa Rica se han encontrado en fuentes de agua de uso recreativo, por lo que los profesionales en salud deben mantenerse actualizados sobre la epidemiología y el diagnóstico de estas infecciones para dar un tratamiento oportuno, fundamental para el pronóstico del paciente. El objetivo de esta revisión es reunir aspectos actualizados sobre el ciclo de vida, la epidemiología, manifestaciones clínicas, diagnóstico, y el tratamiento de las infecciones producidas por amebas de vida libre.

MÉTODO

Se realizó una revisión de artículos y publicaciones científicas en base de datos, como Pub med, Science direct, BINASS, Google scholar y Scielo. En la búsqueda se utilizó las frases: amebas de vida libre, *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia*, meningitis amebiana primaria, y encefalitis amebiana granulomatosa.

CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de las amebas de vida libre, generalmente involucran dos estadios: el trofozoito y el quiste. En el caso de *N. fowleri*

hay dos formas de trofozoíto, el de forma ameboide (10-25 μm), con capacidad de alimentarse y reproducirse, y el flagelado (10-16 μm) caracterizado por una morfología piriforme y tener de 2 a 4 flagelos, lo que le proporciona la capacidad de desplazarse hacia ambientes más favorables cuando el medio en el que se encuentra carece de nutrientes. El quiste (8-12 μm) de *N. fowleri* es de forma esférica con una doble pared, compuesta principalmente por celulosa, siendo esta su forma de resistencia, lo cual asegura la supervivencia de la ameba a condiciones adversas. En la pared externa del quiste hay poros llamados ostiolos, por donde emerge el trofozoíto una vez que se encuentre en un ambiente favorable (5).

El ciclo de vida de *Acanthamoeba* y *B. mandrillaris* también cuenta con los dos estadios. Los trofozoítos de *Acanthamoeba* son ameboides, con múltiples proyecciones pseudopodiales retráctiles, finas o espinosas llamadas acantopodios, y su tamaño varía de acuerdo con cada especie, desde 20 a 40 μm . Los quistes son esféricos o poligonales, tienen una doble pared, y miden de 6 a 30 μm de diámetro. Por otro lado, los trofozoítos de *B. mandrillaris* son pleomórficos, miden de 15 a 60 μm , y se desplazan lentamente mediante amplias proyecciones aplanadas, llamadas lamelipodios; los quistes miden de 15 a 30 μm de diámetro y tienen una triple pared característica (3).

La infección por AVL generalmente se da cuando el trofozoíto entra por cavidad nasal y ataca al sistema nervioso central (neurotropismo) a través del nervio olfatorio o de la mucosa nasofaríngea. Asimismo, la afección al sistema nervioso central se puede producir por vía hematógena a partir de un foco primario pulmonar o cutáneo; tanto en individuos inmunocompetentes e inmunodeficientes.

La queratitis por *Acanthamoeba* se da principalmente cuando hay una lesión previa en el ojo, predisponiendo a la córnea a ser invadida por la ameba (6,7).

EPIDEMIOLOGÍA

Las AVL se encuentran ampliamente distribuidas alrededor del mundo, *Acanthamoeba* puede sobrevivir en un amplio rango de temperaturas, pH y osmolaridad, encontrándose en el aire, suelos y agua, es de las AVL más comúnmente aisladas del medio ambiente y es más común en infecciones del ser humano. Las especies de *Acanthamoeba* se clasifican en 17 genotipos basado en la secuencia del ARNr 18S, siendo el genotipo T4 en el que se encuentra la mayoría de las especies patogénicas (1).

Actualmente hay poca información sobre *B. mandrillaris*, se sabe que afecta a personas de todas las edades, tanto inmunocompetentes como inmunocomprometidos, se ha aislado de suelos, polvo y agua; y estudios en California revelaron que una gran proporción de los pacientes infectados son de origen hispano, probablemente relacionado a su labor en actividades agrícolas (8).

La EAG generalmente se presenta en personas inmunocomprometidas, por ejemplo, en pacientes con el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA), pacientes en quimioterapia, receptores de trasplantes, diabéticos, pacientes con neoplasias hematológicas, lupus sistémico eritematoso, o en pacientes que ingieren esteroides; sin embargo, también se han reportado casos en personas inmunocompetentes. A nivel mundial se han reportado alrededor de 400 casos, aunque podrían ser más debido a la experiencia

diagnóstica limitada, y la falta de recursos; presentando una tasa de mortalidad de 90 al 95% (9,10,11). Por otro lado, la queratitis se asocia a usuarios de lentes de contacto, traumatismos corneales, falta de higiene personal, formación de biofilms, limpieza deficiente de los lentes de contacto y el contacto con agua, materiales o soluciones contaminadas. Su incidencia varía entre países desarrollados y en vía de desarrollo, así como entre áreas geográficas; la incidencia suele ser menor en los países en desarrollo en comparación con los países desarrollados. En estos últimos, la mayoría de los casos están relacionados con el uso de lentes de contacto, de estos el 80 -85 % se relaciona a lentes de contacto blandos, aunque puede presentarse con lentes rígidos y ortoqueratológicos (12).

N. fowleri se encuentra frecuentemente en suelos y aguas de ríos, lagos y gracias a sus propiedades termofílicas, se ha aislado en aguas termales con temperaturas de hasta 45°C. Prácticamente se han reportado casos en todos los continentes, excepto en la Antártida.

Su incidencia ha aumentado debido al calentamiento global, se han visto más casos en niños y hombres jóvenes, asociándose con actividades acuáticas recreativas y en personas que practican abluciones con agua contaminada (13). A nivel mundial se reportan de 235 a 400 casos de MAP, pero al igual que EAG, podría estar subestimado, por lo que se requieren de más estudios epidemiológicos para conocer su prevalencia e incidencia (13,14).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

En el caso de EAG, los síntomas generalmente inician con cefalea, irritabilidad, náuseas, mareos y fiebre leve. Hay aumento de la presión intracraneal,

presentando síntomas neurológicos dependiendo del área del cerebro afectada, se pueden presentar convulsiones, alucinaciones, signos neurológicos focales, diplopía, letargo, parálisis de pares craneales, ataxia, y parálisis flácida de alto grado de la extremidad inferior derecha. En algunos casos la encefalitis se presenta como un tumor cerebral, ocupando incluso un espacio bien definido. Su evolución es subaguda o crónica, con una duración variable de días a meses, y un deterioro progresivo, resultando en un edema intenso y necrosis con presencia de trofozoítos y quistes (3,10,11,15). Se han reportado casos en los que se presenta una lesión cutánea, precediendo los síntomas neurológicos, caracterizada por ser una placa eritematosa localizada principalmente en cara o rodilla, esto se da principalmente cuando el agente causal es *B. mandrillaris* (16).

La queratitis causada por *Acanthamoeba* sp. es una infección grave de la córnea, muy dolorosa, que presenta síntomas como fotofobia, enrojecimiento y lagrimeo, la cual puede provocar pérdida de la visión si no es tratada a tiempo. Aunque el uso de lentes de contacto es el principal factor de riesgo, *Acanthamoeba* sp. puede causar infección en personas que no usan lentes de contacto. La infección inicia en el epitelio y progresa lentamente hacia el estroma, el riesgo de pérdida de la visión está relacionado con la formación de cicatrices y la ulceración de la córnea, lo que provoca una lesión ocular masiva; en la mayoría de los casos, es unilateral, sin embargo, puede afectar a ambos ojos (12).

La MAP tiene un periodo de incubación es de 3 a 8 días, iniciando con síntomas comunes de una meningitis, como cefalea, rigidez de cuello y fiebre elevada, seguido de irritabilidad y vómitos. La fotofobia puede ser

de inicio tardío durante el curso clínico, seguido de anomalías neurológicas, incluyendo letargo, convulsiones, confusión, coma, diplopía o comportamiento extraño. Al ser síntomas similares a otras meningitis es necesario realizar una exhaustiva historia clínica del paciente para que el médico pueda sospechar de MAP, ya que una vez haya iniciado la sintomatología, los pacientes fallecen entre el tercer y séptimo día.

Como se mencionó anteriormente, los trofozoítos ingresan a través de la cavidad nasal, penetrando el neuroepitelio olfatorio, migrando por los nervios olfatorios a través de la lámina cribosa hasta llegar a los bulbos olfatorios del sistema nervioso central, una vez en el cerebro la ameba puede proliferar y causar una reacción inflamatoria aguda, observándose un infiltrado inflamatorio formado por neutrófilos, eosinófilos y macrófagos, siendo una característica histopatológica del tejido cerebral infectado; todo esto produce daño tisular severo, ulceración de la mucosa olfatoria y necrosis de los nervios olfatorios. La causa de la muerte suele ser un aumento de la presión intracraneal con hernia cerebral, lo que provoca paro cardiopulmonar y edema pulmonar (13,17).

DIAGNÓSTICO

Los estudios imagenológicos como la tomografía axial computarizada (TAC) y el angiograma cerebral suelen ser inespecíficos, en el caso de EAG se observan lesiones ocupantes de espacio, únicas o múltiples, hipodensas, con graves lesiones vasculares, las cuales también pueden observarse en pacientes con abscesos o tumores cerebrales, así como con hematoma intracerebral (3,11). Mientras que en MAP el TAC y la resonancia

magnética muestran edema cerebral difuso con signos de aumento de la presión intracraneal realce leptomeníngeo con contraste, disminución del tamaño de los ventrículos, áreas de hemorragia, necrosis y/o hernia (18).

Se puede realizar exámenes microscópicos a partir de muestras de líquido cefaloraquídeo (LCR), lesiones en piel, biopsia pulmonar o tejido cerebral, estos últimos se obtienen por cirugía o post mortem. En el LCR de pacientes con EAG se observa una pleocitosis de predominio linfocítico, con elevación discreta de proteínas y una glucosa normal o disminuida, por el contrario, en las infecciones por *Naegleria* el LCR es similar al de una meningitis bacteriana, suele ser turbio, existe pleocitosis con predominio de polimorfonucleares, aumento de las proteínas y la glucosa puede estar normal o disminuida, no se visualizan bacterias y el cultivo bacteriano es negativo (19).

Para el análisis por microscopía directa se recomienda tomar de 2 a 3 ml de LCR y centrifugarlo a 250 g durante 10 minutos para evitar la deformación o ruptura de las amebas, es difícil hacer la observación directa de los trofozoítos, ya que se pueden confundir con otras células en el LCR, como monocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos.

Las amebas pueden identificarse mediante tinciones, con Wright, Giemsa o hematoxilina y eosina (H & E), la tinción de Gram no es útil para el diagnóstico, ya que no muestra la morfología nuclear característica de estas, por ejemplo, el núcleo de *N. fowleri* contiene un nucleolo central grande y redondo que la distingue de otras amebas o células (9,11,20).

Asimismo, en el caso de muestras de LCR sospechosas de *N. fowleri*, se puede realizar la prueba de enflagelación, la cual consiste

en incubar una muestra de sedimento del LCR en solución salina isotónica durante dos horas a temperatura ambiente; después de este tiempo deben buscarse los microorganismos flagelados muy activos, estos se pueden marcar con anticuerpos acoplados a moléculas fluorescentes y observarse por microscopia de fluorescencia para mayor especificidad (21).

El análisis de LCR es la manera más rápida de llegar a un diagnóstico oportuno, sin embargo como se mencionó anteriormente tiene una sensibilidad baja, dado que no siempre se logra observar los trofozoítos, e incluso cuando se sospecha de infecciones por amebas de vida libre, la punción lumbar para la recolección de LCR se convierte en un desafío, ya que pacientes infectados principalmente por *N. fowleri* pueden presentar una presión intracraneal elevada lo cual es una contraindicación para la punción lumbar (22).

En las biopsias de tejidos es posible observar tanto quistes como trofozoítos, usando tinciones como Wright, hematoxilina-eosina, Giemsa, Grocott, blanco de calcoflour, entre otras, sin embargo también es difícil realizar la distinción de la ameba infectante, principalmente por las similitudes entre *Acanthamoeba* y *B. mandrillaris*, por esta razón se recomienda el uso de técnicas de inmunofluorescencia con el uso de anticuerpos específicos para cada especie o el uso de la microscopía electrónica (9,11). Actualmente, las técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real han venido a facilitar mucho el diagnóstico dada su especificidad y sensibilidad, pudiendo aislarse amebas de múltiples muestras (10). El LCR y las biopsias de tejido se pueden cultivar en distintos medios, entre ellos los axénicos, como el caldo PYG, el cual

contiene: peptona, levadura y glucosa y el medio Nelson, con extracto de cerebro o suero fetal de ternero, en medios xénicos como el medio de cultivo NNA (agar no nutritivo) y en cultivos celulares de células renales de mono E6 y células pulmonares embrionarias humanas (11).

El agar no nutritivo suplementado con *Escherichia coli* ATCC 25922, es el medio de cultivo de elección para aislar amebas. La muestra se inocula sobre el agar y se incuba a una temperatura de 28 a 30°C, durante 7 a 20 días, revisando las placas diariamente en un microscopio a 10x para observar trofozoítos o la formación de rieles que dejan las amebas al movilizarse por el agar. *B. mandrillaris* solo puede ser aislado de cultivos celulares, por lo que se deben usar otros métodos diagnósticos en caso de sospechar de este agente infeccioso (7). La sensibilidad del cultivo depende de varios factores: del tipo y la cantidad de muestra, del tiempo desde que se toma la muestra hasta su procesamiento y del estadio morfológico del parásito (19).

En el caso de la queratitis amebiana se debe hacer diagnóstico diferencial con otras queratitis causadas por hongos, herpes o bacterias, los exámenes de laboratorio es lo único que puede confirmar el diagnóstico, para lo cual se toma un hisopado o raspado de la lesión corneal para su observación directa mediante tinciones e incluso su cultivo, aunque este último requiere de largas incubaciones lo que retrasaría mucho el diagnóstico. También se utilizan técnicas moleculares dada su rapidez, especificidad y sensibilidad.

Si el paciente es usuario de lentes de contacto se puede realizar análisis a estos y sus soluciones para descartar o verificar la presencia de la ameba (23).

Tabla 1. Características físicas y químicas de MAP y EAG en el LCR

Características LCR	MAP	EAG
Aspecto	Turbio	Claro
Coagulación	Sí	No
Recuento de leucocitos	1000 – 26000 cel/ mm ³ – predominio de PMN	50 -1000 cel/mm ³ – predominio linfocitario
Proteínas	1.0 – 5.0 g/L	0.5 – 2.0 g/L
Glucosa	Normal o < 0.40 g/L	Normal o < 0.60 g/L
Lactato Deshidrogenasa	Muy elevada	Normal
Proteína C Reactiva	> 200 mg/L	< 20 mg/L
Presencia de glóbulos rojos	En ocasiones	No
Abreviaturas. LCR, líquido cefalorraquídeo; MAP, meningoencefalitis amebiana primaria; EAG, encefalitis amebiana granulomatosa; Cel, célula; PMN, polimorfonucleares.		
Fuente. ¹ Tenelema J. Diagnóstico de laboratorio clínico en la infección humana por amebas de vida libre. Univesidad Nacional de Chimborazo. 2020.		

TRATAMIENTO

El tratamiento tanto de EAG y MAP se ha basado en diferentes combinaciones de medicamentos con resultados contradictorios, para la EAG, se reporta el uso de esquemas mixtos de ketoconazol, rifampicina y cotrimoxazol, mientras otros han asociado sulfonamidas con fluconazol y macrólidos, y en otros casos se ha discutido el uso de anfotericina B y clorhexidina (9). La pentamidina, flucitosina, fluconazol, miltefosina y sulfadiazina más azitromicina o claritromicina, combinada con resección quirúrgica si hay lesiones del SNC, se han utilizado con éxito en algunos casos de EAG por *B. mandrillaris* (8, 24). La dificultad que presentan la mayoría de los antimicrobianos disponibles es que no atraviesan la barrera hematoencefálica lo suficiente para alcanzar concentraciones terapéuticas; además, si el tratamiento no se da al inicio de la infección hay menores probabilidades de mejora (10). Para MAP la tasa de supervivencia mejora cuando se usa una combinación de anfotericina B por vía intravenosa, con

administración intratecal de anfotericina B y rifampicina oral junto con otros agentes antifúngicos, sin embargo, no todos los pacientes tratados con anfotericina B sobreviven. Otros estudios han sugerido que una combinación triple de anfotericina B en dosis bajas administrada por vía intravenosa con rifampicina oral y ketoconazol oral daría un resultado más favorable. Estudios in vivo e in vitro han demostrado que la azitromicina es eficaz contra *N. fowleri*, pero aún queda por desarrollar un tratamiento óptimo (20). El tratamiento actual de la queratitis por *Acanthamoeba* sp. consiste en el uso de agentes antimicrobianos tópicos, que pueden alcanzar altas concentraciones en el sitio de la infección. La mayoría de los agentes tópicos utilizados actualmente son eficaces contra trofozoítos y quistes de *Acanthamoeba*, entre ellos están las biguanidas como el polihexametileno biguanida (PHMB), aunque desafortunadamente es tóxico para las células de la córnea humana; y la clorhexidina, que no es tóxica y se usa a menudo en combinación con diamidinas

aromáticas como el isetionato de propamidina, la dibromopropamidina, la hexamidina y la neomicina, mostrando buenos resultados si se aplica el tratamiento temprano en el desarrollo de la infección. Estos antimicrobianos tópicos se administran cada hora inmediatamente después del desbridamiento corneal o durante los primeros días de tratamiento. Pueden ser necesarias dos semanas antes de que se observe una respuesta, y la duración total del tratamiento es de un mínimo de tres a cuatro semanas (25).

Se ha visto que *Acanthamoeba* puede formar quistes dentro del tejido, y un solo quiste que sobreviva en la córnea puede provocar una reinfección, por lo que se debe controlar con regularidad el progreso del tratamiento, idealmente cada 1 a 2 semanas. Después de la recuperación clínica, se recomienda realizar controles mensuales, hasta 6 meses después de la disminución de los síntomas (25).

CONCLUSIONES

Las infecciones causadas por AVL constituyen una de las infecciones oportunistas emergentes con mayor interés médico. Las AVL se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y son frecuentes en zonas donde el ser humano practica actividades que lo exponen a estos protozoos, y aunque estas infecciones tienden a ser poco frecuentes, suelen ser fatales. El diagnóstico temprano es desafiante pero crucial para lograr un resultado favorable, el cual depende principalmente de dos variables: la familiaridad del médico con la sintomatología y el tratamiento de estas infecciones, y de una muestra clínica adecuada para su diagnóstico rápido y definitivo (10, 19).

El PCR es la técnica de elección en el diagnóstico molecular, siendo considerada como la más apropiada por su gran sensibilidad, especificidad y rapidez, teniendo como ventaja el requerimiento de mínimas cantidades de muestra, sin embargo, no siempre está disponible, ya que en muchos casos su aplicación se limita a laboratorios de referencia. La observación directa en LCR de las amebas, es una técnica rápida y sencilla, pero tiene una baja sensibilidad, y depende mucho de la experiencia del analista, asimismo se requiere habilidad para cultivar las amebas a partir de muestras clínicas, y esta es una técnica que requiere mucho tiempo (6).

La sospecha clínica es fundamental por parte del médico para lograr un oportuno diagnóstico; pacientes con meningoencefalitis aguda de etiología desconocida, donde no se observan bacterias en LCR, presenten un cultivo bacteriano negativo y no haya una respuesta favorable al tratamiento con antibióticos, se debe sospechar de MAP. En el caso de una meningoencefalitis con lesiones cutáneas, y otros indicios epidemiológicos, como la exposición al suelo o al agua se debe sospechar de *B. mandrillaris* o *Acanthamoeba*, sin embargo, no siempre están presentes las lesiones cutáneas (19). Actualmente no hay regímenes estandarizados de tratamientos exitosos para luchar contra las infecciones de las amebas de vida libre, esto ha promovido investigaciones con nuevos acercamientos terapéuticos, nuevos métodos de administración de fármacos al SNC, y un mayor dominio de los mecanismos fisiopatológicos (18).

La concientización sobre la presencia de las AVL es importante en la sociedad para promover su prevención, al estar asociadas a fuentes de agua, es recomendable tomar

las medidas de precaución adecuadas para garantizar la calidad del agua; sometiendo el agua de piscinas a procesos de tratamiento eficientes y realizando monitoreos ambientales con técnicas de detección rápidas y sensibles para prevenir el riesgo de infección (26).

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. Bursle E & Robson J. Free living amoebae and human disease. Under the microscope. 2016 [citado: 05 de agosto del 2021] Disponible en: <https://www.publish.csiro.au/MA/pdf/MA16009>
2. Pereira A & Pérez M. Amebas de vida libre. Offarm. [Internet] 2003 [citado: 05 de agosto del 2021]. Vol. 22 N°6. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-amebas-vida-libre-13049114>
3. Oddo D. Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anatómoclínicos. Rev Chil Infect. 2006. [citado: 05 de agosto del 2021] 23 (3): 200-214. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182006000300002>
4. Carbal L, Foen L, Morales M, Orozco M. Amebas de Vida Libre aisladas en aguas superficiales del municipio de Turbaco, Bolívar-Colombia. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2016 [citado: 05 de agosto del 2021] Vol. 68, No. 1. Disponible en: <https://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/rt/printerFriendly/127/111>
5. Coronado D, Shibayama M. Papel de la inflamación en la meningoencefalitis amebiana primaria producida por Naegleria fowleri. Mens. Bioquim. 2017 [citado: 05 de agosto del 2021] (41) 54-64. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337009726_Papel_de_la_inflamacion_durante_la_meningoencefalitis_amebiana_primaria_producida_por_Naegleria_fowleri
6. Abrahams E, Retana L. Amebas de vida libre como agentes de encefalitis en el ser humano. Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica. 2014. [citado: 05 de agosto del 2021] 20 (3). Disponible en: <http://microbiologos.cr/Revistas/4.pdf>
7. Cabello-Vilchez, A. Balamuthia mandrillaris en el Perú, lesiones cutáneas, meningoencefalitis y métodos de cultivo. Infectio. [Internet] 2016 [citado: 05 de agosto del 2021] 20(2):107-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.infect.2015.10.006>
8. Cope J, Landa J, Nethercut H, Collier S, Glaser C, Moser M, et al. The Epidemiology and Clinical Features of Balamuthia mandrillaris Disease in the United States, 1974–2016. Clinical Infectious Diseases. 2019 [citado: 05 de agosto del 2021]; 68(11):1815–22. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy813>
9. Matos R, Ruiz J, Casanova G. Encefalitis Granulomatosa Amibiana en paciente inmunocompetente. Revista Venezolana de Salud Pública. 2016. [citado: 05 de agosto del 2021] 4(1):69-72. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6570455.pdf+&cd=1&hl=es&ct=clink&l=cr>
10. Kalra S, Sharma P, Shyam K, Tejan N, Ghoshal U. Acanthamoeba and its pathogenic role in granulomatous amebic encephalitis. Experimental Parasitology. 2020. [citado: 05 de agosto del 2021] <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.10778>
11. Duggal SD, Rongharpi SR, Duggal AK, Kumar A & Biswal I. Role of Acanthamoeba in Granulomatous Encephalitis: A Review. J Infect Dis Immune Ther. 2017 [citado: 05 de agosto del 2021] 1:1. Disponible en: https://www.scitechnol.com/peer-review/role-of-acanthamoeba-in-granulomatous-encephalitis-a-review-JszK.php?article_id=7095.
12. De Lacerda AG, & Lira M. Acanthamoeba keratitis: a review of biology, pathophysiology and epidemiology. Ophthalmic Physiol Opt. 2021. [citado: 05 de agosto del 2021] 41: 116–135. <https://doi.org/10.1111/opo.12752>
13. Martínez M, Cárdenas R, Coronado D, Debnath A, Serrano J, Shibayama M. Naegleria fowleri after 50 años: is it a neglected pathogen? Journal of Medical Microbiology. 2016. [citado: 05 de agosto del 2021] 65: 885-896. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000303>
14. Sutherland Maciver S, Piñero J, Lorenzo J. Is Naegleria fowleri an Emerging parasite? Trends in Parasitology. 2020. [citado: 05 de agosto del 2021] 36 <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.10.008>
15. Carvalho - Ferreira ME, Barros- Ferreira MC. Meningoencefalitis infecciosas causadas por amebas de vida libre: Naegleria fowleri, Balamuthia y Acanthamoeba sp. 2019. [citado: 05 de agosto del 2021]. Centro Universitario de

- Brasilia. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/232199379.pdf>
16. Bravo, F., Seas, C. Balamuthia Mandrillaris Amoebic Encephalitis: An Emerging Parasitic Infection. *Curr Infect Dis Rep.* 2012. [citado: 05 de agosto del 2021] 4, 391–396. <https://doi.org/10.1007/s11908-012-0266-4>
 17. Visvesvara G, Moura H, Schuster F. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, and Sappinia diploidea. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 2007 [citado: 05 de agosto del 2021]. 50(1), 1-26. <https://doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x>
 18. Mendiola J, Fresco Y, Rodriguez M. Encefalitis por amebas de vida libre: herramientas actuales para el diagnóstico y tratamiento tempranos. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* 2020. [citado: 05 de agosto del 2021] 72(3):e490. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602020000300010&lng=es&nrm=iso
 19. Tenelema J. Diagnóstico de laboratorio clínico en la infección humana por amebas de vida libre. *Univesidad Nacional de Chimborazo.* 2020. [citado: 05 de agosto del 2021]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/7396>.
 20. Da Rocha-Azevedo B, Tanowitz H B, Marciano-Cabral F. Diagnosis of infections caused by pathogenic free-living amoebae. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases.* 2009. [citado: 05 de agosto del 2021] <https://doi:10.1155/2009/251406>
 21. Shibayama M, Martinez M. Modelos animales para el estudio de la meningoencefalitis amebiana primaria. *Universitarios Potosinos.* 2018. [citado: 05 de agosto del 2021] Disponible en: <http://www.uaslp.mx/Comunicacion-Social/Documents/Divulgacion/Revista/Catorce/20/04.pdf>
 22. Abdul M. Primary Amoebic Meningoencephalitis: Neurochemotaxis and Neurotropic Preferences of Naegleria fowleri. *ACS Chemical Neuroscience.* 2016. [citado: 05 de agosto del 2021]. 7, 1026–1029. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.6b00197>.
 23. Franco I, Abente S, Guilen R, Samudio M. Detección de Acanthamoeba por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en líquidos de conservación de lentes de contacto. *Revista Cubana de Oftalmología.* 2020. [citado: 05 de agosto del 2021] 33 (1) e775. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/oft/v33n1/1561-3070-oft-33-01-e775.pdf>
 24. Schafer K, Shah N, Almira-Suarez M, Reese J, Hoke G, Mandell J, et al. Disseminated Balamuthia mandrillaris infection. *J Clin Microbiol.* 2015. [citado: 05 de agosto del 2021] 53:3072–3076. <https://doi.org/10.1128/JCM.01549-15>.
 25. Lorenzo- Morales J, Khan N, Walochnik J. An Update on Acanthamoeba keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite.* 2015. [citado: 05 de agosto del 2021]. <https://doi.org/10.1051/parasite/2015010>
 26. Jahangeer, M, Mahmood Z, Munir N, Waraich U, Tahir I, Akram M, et al. Naegleria Fowleri: sources of infection, pathophysiology, diagnosis, and management; a review. 2019. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* [citado: 05 de agosto del 2021] <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13192>