

Infeción por *Balamuthia mandrillaris* y *Toxoplasma gondii* en sistema nervioso central y posible rol de la ameba como caballo de Troya

Central nervous system infection with *Balamuthia mandrillaris* and *Toxoplasma gondii* and possible role of the amoeba as a Trojan horse

Perazzo Juliana M.^{1*}, Degese María Fernanda², Ledesma Bibiana A.², Nigro Monica², Palma María Belén¹, Nappe Joana B.¹, Randazzo Viviana³, Epelbaum Carolina⁴, Lubieniecki Fabiana⁵, Lamas Gabriela⁵ Correa Louzao E.¹, Denoi Mariana¹, Vizzo Andrea¹, Braica María Victoria⁶, Batalla Marcelo⁶, Buchovsky Ana⁶, Palacios Christian⁷, Rugilo Carlos⁷, Flores Arnez Josmar⁸, Medina Florencia⁹, Cuba Facundo¹⁰, Poklépovich Tomás⁹, Pérez Garófalo Magalí B.¹

RESUMEN: Las infecciones en sistema nervioso central (SNC) por *Balamuthia mandrillaris* y *Toxoplasma gondii* son poco frecuentes. Su diagnóstico precoz es fundamental para instaurar un tratamiento oportuno. Se describe un caso clínico de una paciente inmunocompetente previamente sana con afectación cerebral por *B. mandrillaris* y *T. gondii*, con serología persistentemente no reactiva para este último, recibida en un hospital pediátrico de tercer nivel de atención. Existe en bibliografía evidencia de que amebas de vida libre y *T. gondii* pueden habitar los mismos ambientes en la naturaleza, y que las primeras pueden fagocitar ooquistes de *T. gondii*, permitiendo retener la infectividad de éstos en su interior. Por lo que se plantea la posibilidad de que *T. gondii* haya accedido al SNC de la paciente en el interior de la ameba, permaneciendo oculto para el sistema inmune del hospedero. La paciente evolucionó favorablemente post resección quirúrgica y tratamiento antimicrobiano de su infección.

Palabras clave: amebas de vida libre, sistema nervioso central, diagnóstico

ABSTRACT: *Balamuthia mandrillaris* and *Toxoplasma gondii* central nervous system infections (SNC) are rare. Early diagnosis of these infections is vital for proper treatment onset. The study describes a clinical case of an immunocompetent patient with *B. mandrillaris* and *T. gondii* cerebral infection, who had a persistently non-reactive toxoplasmosis serology, attended in a tertiary care children's hospital. There are reports that these free-living amoebas and *T. gondii* can co-habit the same places in nature, and that free-living amoebas can phagocytize *T. gondii* oocysts, allowing them to retain their infectivity inside the amoeba. Because of this, we consider the possibility that *T. gondii* may have entered into the patient's central nervous system inside the amoeba, avoiding contact with the host immune system. The patient improved after surgical resection of the cerebral lesion and antimicrobial treatment.

Keywords: free living amoebae, central nervous system, diagnosis

¹ Sector Parasitología, Laboratorio Central, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Combate de los Pozos 1881, C1245AAM, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

² Departamento de Parasitología; INEI-ANLIS Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563, C1282AFF, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³ Cátedra de Microbiología y Parasitología, Departamento de Biología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional del Sur, Avenida Colón 80, 8000 FTN, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

⁴ Servicio de Epidemiología e Infectología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

⁵ Servicio de Patología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

⁶ Sector Serología, Laboratorio Central, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

⁷ Sector Neuroradiología, Servicio Diagnóstico por Imágenes, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

⁸ Servicio de Neurointervencionismo, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

⁹ Unidad Operativa: Centro Nacional de Genómica y Bioinformática, INEI-ANLIS Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563, C1282AFF, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia: juliperazzo01@gmail.com - ARK CAICYT: <https://id.caicyt.gov.ar/ark:/s23139862/axn49avk7>

INTRODUCCIÓN

Balamuthia mandrillaris es una ameba de vida libre anfitriónica y ubicuista, que puede actuar como patógeno primario y producir infecciones en sistema nervioso central (SNC), provocando encefalitis granulomatosa amebiana (EGA) (Ong *et al.*, 2017). *Balamuthia mandrillaris* puede ingresar por aspiración de aire o agua contaminada, o a través de lesiones en piel, con posterior diseminación hematológica hacia SNC (Król-Turmińska y Olender, 2017). La sintomatología puede demorar semanas, o meses en aparecer (Kofman y Guarner, 2022). Debido a la elevada mortalidad de esta entidad (95-98%), el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno son indispensables para la supervivencia de los pacientes (Kofman y Guarner, 2022).

Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado que causa toxoplasmosis, una infección adquirida, generalmente asintomática en pacientes inmunocompetentes (Khalid *et al.*, 2023). Debido a esto, el diagnóstico en esta población usualmente se basa en métodos serológicos (Robert-Gangneux y Dardé, 2012). La afectación en el sistema nervioso central en pacientes inmunocompetentes es extremadamente rara (Khalid *et al.*, 2023).

Existe en bibliografía evidencia de que amebas de vida libre (AVL) y *T. gondii* pueden habitar los mismos ambientes en la naturaleza (Mahmoudi *et al.*, 2015), y que las primeras pueden fagocitar ooquistes de *T. gondii* (Tapia *et al.*, 2013), permitiendo retener la infectividad de éstos en su interior (Winiecka *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo es describir un caso de coinfección en sistema nervioso central por *Balamuthia mandrillaris* y *Toxoplasma gondii* en una paciente inmunocompetente, previamente sana, estudiada en un hospital de pediatría de tercer nivel de atención, con serología persistentemente no reactiva para *T. gondii*, proponiendo la posibilidad de que *T. gondii* haya accedido al SNC en el interior de la ameba, permaneciendo oculto al sistema inmune del hospedero.

CASO CLÍNICO

Se describe un caso clínico de una paciente de sexo femenino de 10 años de edad, oriunda de Merlo, Buenos Aires, Argentina, previamente sana, atendida en el Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", que fue derivada a la institución el 17/12/2023 por sintomatología neurológica (cefalea, desorientación, afasia, ataxia, convulsiones), vómitos y fiebre, con una imagen de masa ocupante en tomografía, compatible con cerebritis. El cuadro fue inicialmente asumido como absceso bacteriano por haber cursado otitis media aguda y sinusitis en los meses previos, por lo que

18 recibió como tratamiento antibiótico ceftriaxona 100

mg/kg/d, metronidazol 30 mg/kg/d, y vancomicina 60 mg/kg/d.

La paciente se encontraba con leucocitosis ($13,71 \times 10^3/\text{mm}^3$), a predominio de neutrófilos (recuento absoluto de $9,87 \times 10^3/\text{mm}^3$).

Los estudios por resonancia magnética nuclear (RMN), y tomografía computada (TC) evidenciaron una lesión en la región cortico-subcortical, con forma de anillo con un marcado edema, que generaba un efecto de masa ocupante, compatible con un proceso inflamatorio (Fig. 1a).

El 17/12/2023 se realizó una punción lumbar, donde se obtuvo un líquido cefalorraquídeo (LCR) de aspecto turbio incoloro con un elevado recuento celular ($106 \text{ células}/\text{mm}^3$), con predominio de polimorfonucleares, con glucosa de 64 mg% y proteínas de 20,60 mg%, y un valor de ácido láctico de 20,3 g/dl.

El 11/1/2024 por persistencia de los síntomas neurológicos de la paciente se realizó una segunda punción lumbar y una biopsia cerebral. El aspecto del LCR fue límpido, incoloro, con un bajo recuento celular ($5 \text{ células}/\text{mm}^3$), glucosa de 52 mg% y proteínas de 24,90 mg%, el ácido láctico fue 11,6 mg/dl. No se encontraron estructuras parasitarias en la observación microscópica del preparado húmedo de esta muestra.

Los cultivos de ambas muestras de LCR para gérmenes comunes, hongos, y micobacterias fueron negativos, y el análisis por *FilmArray* del panel meníngeo fue no detectable para los gérmenes evaluados (*E. coli* K1, *H. influenzae*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, Citomegalovirus, Enterovirus, Herpes simple virus HSV-1 y HSV-2, Herpes virus humano HHV-6, Parechovirus, Varicela zoster virus, *C. neoformans*, *C. gatti*).

Tampoco se obtuvo desarrollo en los cultivos para gérmenes comunes, hongos, micobacterias y bacterias anaerobias de la biopsia cerebral. El estudio de anatomía patológica de esta muestra evidenció fragmentos de parénquima nervioso con alteración de la histoarquitectura por extenso proceso inflamatorio crónico (Fig. 1b). Con las coloraciones de PAS, Grocott, Gram y Ziehl-Neelsen no se observaron microorganismos, pero la técnica de inmunohistoquímica para toxoplasmosis (marca BioGenex) fue positiva, destacando abundantes estructuras ovoides compatibles con taquizoitos intra y extracelulares (Fig. 1c). Para la búsqueda de parásitos mediante métodos moleculares, la muestra de tejido cerebral fue remitida a un Laboratorio Nacional de Referencia. La extracción de ADN se realizó con el Kit de extracción de DNA de sangre, fluidos y tejidos (Qiagen), y las reacciones de qPCR se llevaron a cabo en un equipo QuantStudio 5 (Thermo Fisher). En este análisis, *T. gondii* se detectó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional dirigida al gen *B1* (Burg, *et al.*, 1989) y por PCR en tiempo

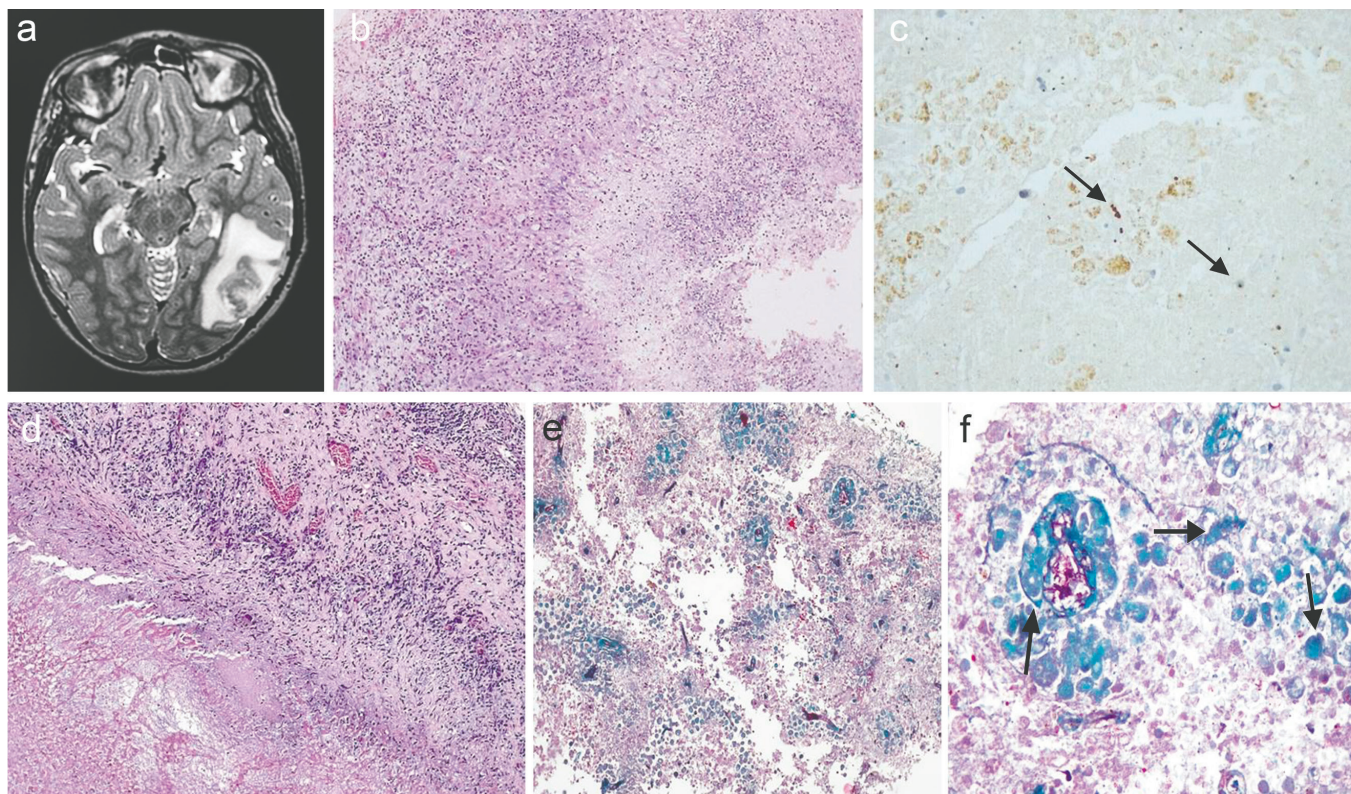


Figura 1. Estudios de resonancia magnética nuclear e histopatología. a) Resonancia magnética nuclear: en la región occipital izquierda se observa lesión cortico-subcortical asociada a marcado edema que genera un efecto de masa sobre las estructuras adyacentes. Dichos hallazgos podrían corresponder en primera instancia con proceso inflamatorio/infeccioso. b) Primera biopsia cerebral muestra un proceso inflamatorio crónico con necrosis central rodeada por histiocitos epitelioides y linfocitos (H&E 10X). c) La inmunomarcación específica para *Toxoplasma gondii* (40X) muestra múltiples elementos positivos intra y extracitoplasmáticos. d) Segunda biopsia cerebral exhibe similar proceso inflamatorio crónico con necrosis (H&E 10X). e) y f) Con técnica de Tricrómico de Gomori se destacan en las zonas de necrosis numerosas estructuras compatibles con amebas de vida libre, dispersas y con disposición perivascular (Tricrómico de Gomori 10X y 40X.).

real (qPCR) dirigida al gen *REP 529* (Kit comercial DIA.PRO) (Figs. 2 a y b). En cambio, la búsqueda de amebas de vida libre (AVL) mediante qPCR multiplex, orientada a la detección del gen 18S del ARN ribosomal de *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris* y *Naegleria fowleri*, resultó negativa en esta biopsia (Qvarnstrom et al., 2006).

En cuanto a los estudios serológicos, los resultados fueron no reactivos para HIV, Chagas, sífilis, hidatidosis, e histoplasmosis. Para diagnóstico serológico de *T. gondii* se efectuó inmunoanálisis por quimioluminiscencia (CMIA) en plataforma Architect i2000SR (Abbot Diagnostics), arrojando resultados no reactivos en cinco ocasiones para IgG (muestras evaluadas entre diciembre de 2023 y mayo de 2024) y en tres ocasiones para IgM (sueros examinados entre diciembre 2023 y mayo de 2024). También se derivó una muestra de suero del 16/5/2024 (cuatro meses después del diagnóstico de toxoplasmosis cerebral) a un Laboratorio Nacional de Referencia donde se realizaron las pruebas de inmunosorbent agglutination assay-IgM, Enzyme-Linked Fluorescent Assay (IgG e IgM) por VIDAS® Biomerieux y ELISA (IgG) *in house* con resultados no reactivos por todas

las técnicas. La serología materna fue no reactiva para toxoplasmosis en los estudios prenatales de la paciente según referencia materna.

Para la evaluación del sistema inmune de la paciente, se realizaron estudios de poblaciones linfocitarias y dosaje de inmunoglobulinas, obteniéndose resultados dentro de los valores de referencia para la edad, lo cual descartaría la posibilidad de inmunodeficiencia combinada o deficiencia de anticuerpos. En cuanto a la prueba de dihidrorodamina (DHR) y la expresión de receptores de la vía IL-12-IFN γ también se encontraron valores normales.

El 19/1/2024 la paciente inició tratamiento para toxoplasmosis cerebral con sulfadiazina 85 mg/kg/día, pirimetamina 1 mg/kg en una única toma y ácido fólico 10 mg de administración trisemanal durante ocho semanas. Además, recibió corticoides por edema perilesional. Se evidenció una leve mejoría de su lesión cerebral, y de su clínica, por lo que se otorgó el alta el día 26/2/2024.

La paciente tuvo una evolución errática, interpretada como desmejoría por descenso de corticoides. Volvió a ser internada el día 12/4/2024, debido a su estado empeorado y a la completa recidiva de su lesión **19**

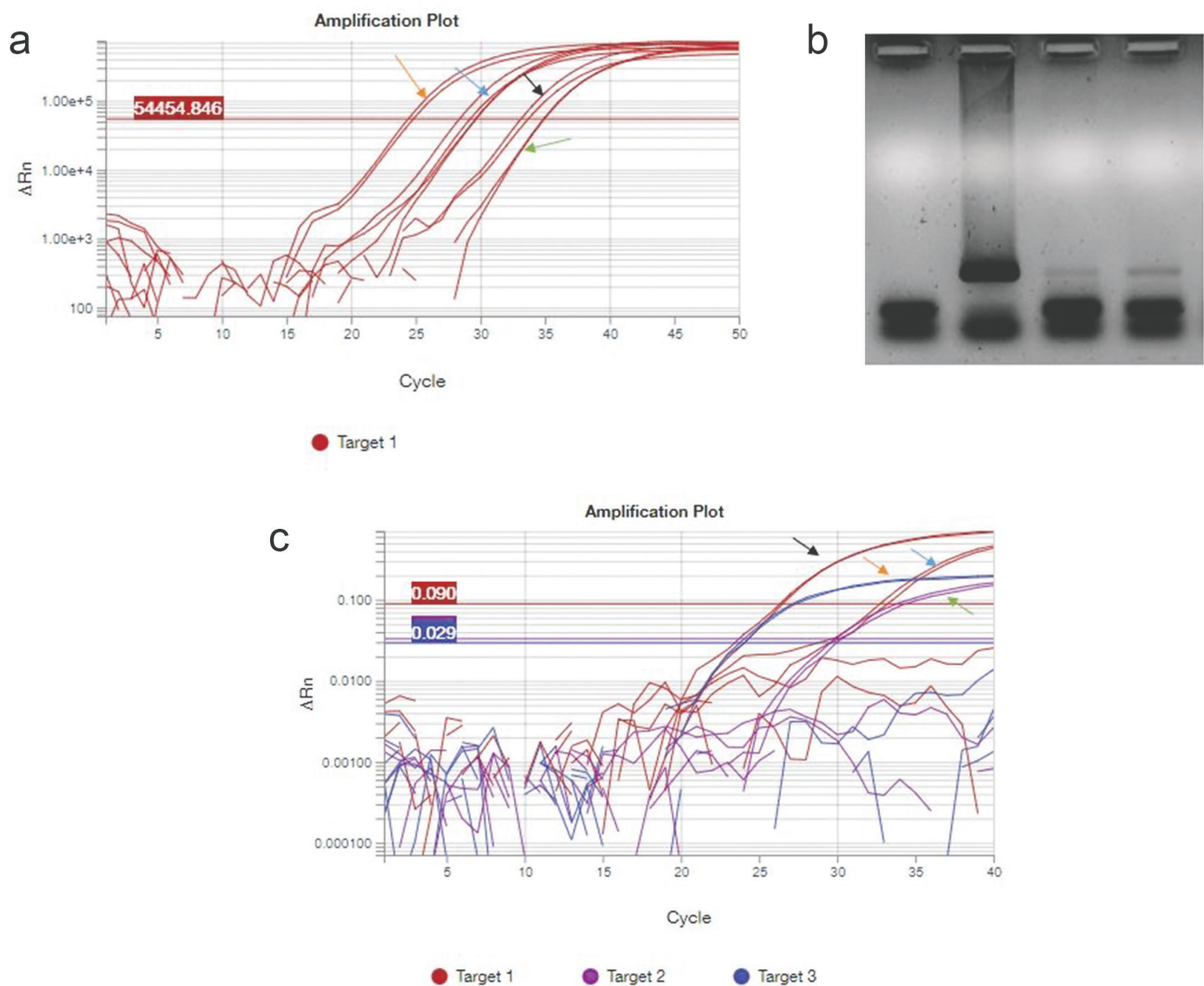


Figura 2. Diagnóstico molecular de *Toxoplasma gondii* y *Balamuthia mandrillaris*. a) Curvas de amplificación (por duplicado) de la qPCR del gen REP 529 de *T. gondii*. Primera biopsia cerebral (flecha negra), segunda biopsia (flecha celeste), control positivo alto (flecha naranja), control positivo bajo (flecha verde). b) Electroforesis en gel de agarosa (2 %) de los productos de PCR del gen B1 de *T. gondii*, de 190 pb. Control negativo (calle 1), control positivo (calle 2), muestras de biopsia cerebral (calles 3-4). c) Curva de amplificación qPCR multiplex gen 18 S. Biopsia cerebral (flecha celeste), control positivo *B. mandrillaris* (flecha negra), control positivo *N. fowleri* (flecha naranja), control positivo *Acanthamoeba* spp. (flecha verde).

inicial, con presencia de gran edema. Por este motivo se realizó una segunda intervención quirúrgica el 23/4/2024, reseccionándose en esta ocasión la totalidad de la lesión. La patología evidenció un proceso inflamatorio crónico necrotizante (Fig. 1d). Con técnica de Tricrómico de Gomori se destacó positividad en el citoplasma de algunas estructuras celulares de difícil caracterización que podrían corresponder a amebas de vida libre (Fig. 1e y f). Los estudios microbiológicos de esta segunda muestra cerebral fueron negativos para todos los microorganismos evaluados (gérmenes comunes, hongos, micobacterias y bacterias anaerobias), con excepción de *T. gondii* (Fig. 2a y 2b) y *B. mandrillaris* (Fig. 2c), cuyos resultados de PCR fueron detectables para ambos. Dada la complejidad del caso clínico, los extractos de ADN de la primera y segunda biopsia cerebral fueron secuenciados en plataforma Illumina (kit COVIDseq adaptado; con dos

lecturas de 150 pb en equipo NovaSeq 6000). Las lecturas sin procesar de Illumina se sometieron a control de calidad con Trim Galore (v0.6.10), FastQC (v0.12.1) y se realizó la clasificación taxonómica con Kraken2 (v2.1.2). Mediante esta técnica se logró reconfirmar la presencia de *T. gondii* en ambas muestras y de *B. mandrillaris* en la segunda biopsia.

El día 29/4/2024 se instauró tratamiento para encefalitis granulomatosa amebiana (EGA) por *B. mandrillaris* con fluconazol 10 mg/kg/día, azitromicina 500 mg/día, sulfadiazina 100 mg/kg/día, flucitosina 37,5 mg/kg cada 6 h, y miltefosina 50 mg cada 12 h, evidenciándose mejoría clínica. La paciente evolucionó favorablemente, sin secuelas, presentando algunos episodios de toxicidad relacionado a los medicamentos administrados, por lo que se suspendió la administración de pentamidina y miltefosina luego de cuatro y seis semanas de

tratamiento respectivamente; y se disminuyeron las dosis de flucitosina, azitromicina y sulfadiazina en junio de 2024 (administrándose 12,5 mg/kg/dosis, 250 mg/día y 75 mg/kg, respectivamente). El día 14/6/2024 se otorgó el egreso hospitalario, y la paciente continuó sus controles médicos en forma ambulatoria. En mayo de 2025 se suspendió la administración de flucitosina y azitromicina luego de haber recibido un año de tratamiento, continuando con trimetoprima-sulfametoxazol 160 mg cada 12 h y fluconazol 400 mg/día hasta la actualidad.

DISCUSIÓN

Las infecciones de afectación central por *Balamuthia mandrillaris* y *Toxoplasma gondii* son poco frecuentes (Kofman y Guarner, 2022; Khalid et al., 2023). Sólo se encontró un caso de coinfección con ambos parásitos en bibliografía, tratándose de un paciente de Estados Unidos de América con virus de inmunodeficiencia humana en estadio avanzado que presentó encefalitis amebiana por *B. mandrillaris* y *Acanthamoeba* sp. y coinfección con neurotoxoplasmosis (Pietrucha-Dilanchian et al., 2011). No se hallaron casos similares en pacientes inmunocompetentes. Para conocimiento de los autores, este es el primer caso de coinfección entre *B. mandrillaris* y *T. gondii* descrito en el país.

Existe evidencia de que la toxoplasmosis puede ser grave en individuos inmunocompetentes, y que cuando cursa con afectación en sistema nervioso central, suele presentarse como encefalitis, meningitis, alteraciones neurológicas focales, parálisis de nervios craneales, síndrome de Guillain-Barré, síndrome de Miller Fisher o síndrome de Brown-Sequard (Layton et al., 2023). En cuanto a las imágenes, se han observado lesiones focales, imágenes de tipo absceso cerebral, y/o de masa ocupante (Layton et al., 2023). En el caso de la paciente aquí presentada, cursó con un absceso cerebral que, si bien coincide con los signos de toxoplasmosis descritos en bibliografía, estos también podrían haber sido causados por *B. mandrillaris*.

El tratamiento de toxoplasmosis instaurado en primer momento, con drogas como sulfadiazina, pudo haber colaborado en impedir o al menos retrasar la evolución de la infección por la ameba, y de esta forma favorecer la sobrevida de la paciente.

Es llamativa la serología persistentemente no reactiva para *T. gondii*, a pesar de ser una paciente inmunocompetente. No se encontraron reportes de presentación similar. Al analizarse los casos de neurotoxoplasmosis en sujetos inmunocompetentes, se encontraron 13 casos, de los cuales nueve contaban con serología reactiva para la infección, en tres pacientes no estaba aclarado este resultado y en un solo paciente la serología fue no reactiva (Akturk et al., 2017; Pustorino et al., 2017; Lima et al., 2021; Khalid et al., 2023). Este paciente fue evaluado sólo

por una técnica y no se estudió la posibilidad de seroconversión en el tiempo.

Debido a los resultados serológicos para *T. gondii* persistentemente no reactivos en la paciente presentada, se piensa en la posibilidad del ingreso de este protozoo en el interior de la ameba.

Existe evidencia de que las AVL y *T. gondii* pueden compartir localizaciones ambientales (Mahmoudi et al., 2015), y que las primeras pueden ingerir otros microorganismos, como *T. gondii* (Tapia et al., 2013). *Toxoplasma gondii* podría haber ingresado en forma directa al SNC en el interior de la ameba, evitando así la exposición al sistema inmune del paciente. El antecedente de nados recreativos en San Clemente podría haber servido para la adquisición de la infección.

Se concluye que es indispensable tener en cuenta la etiología parasitaria en pacientes con afectación en SNC, para lograr un diagnóstico y tratamiento oportunos. La biología molecular se vuelve una herramienta fundamental en este sentido, permitiendo la identificación a nivel de género y/o especie para así instalar oportunamente un tratamiento adecuado. En el caso de la paciente transcurrieron seis días entre la toma de la biopsia cerebral y el inicio de tratamiento para *B. mandrillaris*. Contar con una guía de tratamiento elaborada por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos, que recomienda qué drogas utilizar en forma específica según la especie de ameba encontrada también resulta de gran valor para lograr la sobrevida de los pacientes con estas afecciones.

La posibilidad de endosimbiosis entre ambos patógenos abre la puerta para nuevos estudios que evalúen con precisión el rol de la ameba como caballo de Troya para otros microorganismos parásitos.

La ubicuidad, versatilidad y potencial patogénico de las AVL, sumado a su capacidad de actuar como reservorio de diferentes patógenos de importancia en salud pública, protegiéndolos frente a drogas, desinfectantes, y sistema inmune, constituyen un potencial riesgo sanitario que debe ser dimensionado dentro del equipo de salud, resultando imprescindible conocer el rol que ocupan las AVL en la transmisión de enfermedades infecciosas, adoptando las acciones necesarias para prevenir y controlar las mismas.

AGRADECIMIENTOS

Patricia Paulin, Zahira Bernardi, y Cecilia Martinez por sus conocimientos, consejos, e interés.

LITERATURA CITADA

Akturk, H. K., Sotello, D., Ameri, A., Abuzaid, A. S., Rivas, A. M. y Vashisht, P. (2017). *Toxoplasma* infection in an immunocompetent host: Possible risk of living with multiple cats. *Cureus*, 9(3), e1103. <https://doi.org/10.7759/cureus.1103>

- Burg, J. L., Grover, C. M., Pouletty, P. y Boothroyd, J. C. (1989). Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(8), 1787–1792. <https://doi.org/10.1128/jcm.27.8.1787-1792.1989>
- Kofman, A. y Guarner, J. (2022). Infections caused by free-living amoebae. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(1), e0022821. <https://doi.org/10.1128/JCM.00228-21>
- Król-Turmińska, K. y Olender, A. (2017). Human infections caused by free-living amoebae. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 24(2), 254–260. <https://doi.org/10.5604/12321966.1233568>
- Khalid, S., Memon, S. F., Jumani, L., Memon, S. A. y Siddiqui, M. S. (2023). Neurotoxoplasmosis in the immunocompetent: A rare occurrence. *Cureus*, 15(3), e36782. <https://doi.org/10.7759/cureus.36782>
- Layton, J., Theiopoulou, D. C., Rutenberg, D., Elshereye, A., Zhang, Y., Sinnott, J., Kim, K., Montoya, J. G. y Contopoulos-Ioannidis, D. G. (2023). Clinical spectrum, radiological findings, and outcomes of severe toxoplasmosis in immunocompetent hosts: A systematic review. *Pathogens*, 12(4), 543. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040543>
- Lima, K. D. F., Queiroz, A. L. G., Teixeira, H. S., Bonsi, V. M., Inada, B. S. Y., Lancellotti, C. L. P. y Baêta, A. M. (2021). An atypical case of neurotoxoplasmosis in immunocompetent patients. *Radiology Case Reports*, 16(7), 1766–1769. <https://doi.org/10.1016/j.radcr.2021.04.013>
- Mahmoudi, M. R., Kazemi, B., Haghghi, A. y Karanis, P. (2015). Detection of *Acanthamoeba* and *Toxoplasma* in river water samples by molecular methods in Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 10(2), 250–257. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522301/>
- Pietrucha-Dilanchian, P., Chan, J. C., Castellano-Sanchez, A., Hirzel, A., Laowansiri, P., Tuda, C., Visvesvara, G. S., Qvarnstrom, Y. y Ratzan, K. R. (2012). *Balamuthia mandrillaris* and *Acanthamoeba* amebic encephalitis with neurotoxoplasmosis coinfection in a patient with advanced HIV infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 1128–1131. <https://doi.org/10.1128/JCM.06252-11>
- Pustorino, G., Ferlazzo, E., Carpentieri, M. S., Cianci, V., Gasparini, S., Campello, M., Milardi, G. L., Gangemi, A. y Aguglia, U. (2017). Cerebral toxoplasmosis diagnosed by brain tissue PCR analysis in an immunocompetent patient. *Neurology: Clinical Practice*, 7(5), 436–438. <https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000364>
- Qvarnstrom, Y., Visvesvara, G. S., Sriram, R. y da Silva, A. J. (2006). Multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, and *Naegleria fowleri*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10), 3589–3595. <https://doi.org/10.1128/JCM.00875-06>
- Robert-Gangneux, F. y Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264–296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
- Tapia, J. L., Torres, B. N. y Visvesvara, G. S. (2013). *Balamuthia mandrillaris*: In vitro interactions with selected protozoa and algae. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 60(5), 448–454. <https://doi.org/10.1111/jeu.12052>
- Winiecka-Krusnell, J., Dellacasa-Lindberg, I., Dubey, J. P. y Barragan, A. (2009). *Toxoplasma gondii*: Uptake and survival of oocysts in free-living amoebae. *Experimental Parasitology*, 121(2), 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.09.022>

Recibido: 6 de agosto de 2025

Aceptado: 28 de septiembre de 2025
