

Komunikasi Pendek/Short Communication

Ketahanan Suhu *Acanthamoeba* spp. Pencilan Spesimen Klinikal dan Persekitaran
[Temperature Tolerance of Clinical and Environmental isolates of *Acanthamoeba* spp.]

NURUL FARHANA JUFRI, ANISAH NORDIN, MOHAMED KAMEL ABD GHANI, YUSOF SUBOH & NORAINA ABD RAHIM

ABSTRAK

Acanthamoeba merupakan protozoa hidup bebas yang mampu menyebabkan penyakit keratitis *Acanthamoeba* dan ensefalitis amebik bergranuloma. Ciri fisiologi ameba ini mempunyai kepentingan perubatan dan boleh dikaitkan dengan potensi patogenisitinya. Kajian ini dilakukan untuk mengkaji ciri fisiologikal *Acanthamoeba* dari aspek ketahanan suhu. Enam pencilan *Acanthamoeba* iaitu tiga pencilan klinikal (HSB 1, HKL 48 dan HKL 95) dan tiga pencilan persekitaran (PHS 2, PHS 11 dan PHS 15) digunakan dalam kajian ini. Ujian dilakukan dengan mengkultur sista pada suhu 30°C, 37°C dan 42°C selama dua minggu dan memerhatikan keupayaannya untuk bertukar kepada peringkat trofozoit. Hasil kajian menunjukkan kesemua pencilan mampu bertukar kepada peringkat trofozoit pada suhu 30°C dan 37°C. Walau bagaimanapun tiada trofozoit diperhatikan pada suhu 42°C. Ini menunjukkan terdapat persamaan ciri fisiologi bagi kedua-dua pencilan dan pencilan persekitaran mampu menunjukkan potensi patogenisitinya dan sekaligus boleh menyebabkan jangkitan kepada manusia.

Kata kunci: *Acanthamoeba*; ketahanan suhu; pencilan klinikal; persekitaran

ABSTRACT

Acanthamoeba is a free living protozoa that can cause keratitis and granulomatous amoebic encephalitis. Physiological characteristics of this amoeba are found to have a medical importance and related to the pathogenic potential of the organism. This study was carried out to investigate the physiological characteristic from the aspect of temperature tolerance. Six *Acanthamoeba* strains from three clinical isolates (HSB 1, HKL 48 and HKL 95) and three environmental isolates (PHS 2, PHS 11 and PHS 15) were used in this study. Test was done by culturing cysts at 30°C, 37°C and 42°C for two weeks and the ability of cysts to change to trophozoites were observed. The result showed all strain was able to change to trophozoites at 30°C and 37°C. However, no trophozoites were observed at 42°C. This indicate that there is a similarity in the physiological trait of strains from both isolates are the same and strains from the environment are able to show the pathogenic potential thus capable of causing infection to human.

Keywords: *Acanthamoeba*; temperature tolerance; clinical; environmental isolates

PENGENALAN

Acanthamoeba merupakan protozoa yang hidup bebas secara meluas di persekitaran seperti air, tanah dan udara (Khan et al. 2002; Khan 2003). *Acanthamoeba* juga dikenali sebagai ameba *amphizoic* iaitu protozoa yang mampu hidup secara bebas di sekitaran dan sebagai parasit dalam perumah (Szenasi et al. 1998). Disebabkan sebarannya yang meluas, manusia mudah terdedah kepada ameba ini dan ini dibuktikan dengan kewujudan antibodi terhadap *Acanthamoeba* pada manusia dan haiwan (Shuster & Visvesvara 2004).

Ketahanan suhu didefinisikan sebagai pertumbuhan *Acanthamoeba* dari peringkat sista kepada trofozoit pada suhu tertentu (Gianinazzi et al. 2009; Tsetkova et al. 2004). Pencilan *Acanthamoeba* mampu untuk hidup dengan baik pada suhu bilik iaitu 25°C. Suhu kornea mata adalah antara 32-35°C dan ini menyebabkan pelbagai spesies

Acanthamoeba mampu mengkoloni permukaan kornea (Khan 2006).

Organisma ini juga mampu untuk hidup pada suhu 37°C atau suhu yang lebih tinggi dan menjadi petanda bahawa pencilan tersebut mampu hidup pada suhu badan mamalia (Schuster 2002). Menurut Pumidonming et al. (2009), suhu mata manusia adalah 34°C dan suhu otak pula 37°C. Pencilan yang tidak boleh tumbuh pada suhu ini berkemungkinan tidak boleh menyebabkan penyakit. Tetapi bukan semua pencilan yang boleh tumbuh pada 34°C atau 37°C mampu menyebabkan penyakit. Schuster dan Visvesvara (2004) melaporkan peningkatan pemanasan global menyebabkan terdapat penyebaran penyakit parasitik yang perlu diberi perhatian. Peningkatan suhu boleh meningkatkan kemunculan spesies yang tahan pada suhu tinggi yang lebih sesuai untuk memasuki tubuh manusia. Sehingga kini, tiada laporan mengenai ketahanan suhu *Acanthamoeba* spp. yang dipencilkan di Malaysia.

Pada kajian ini 6 pencilan yang terdiri dari 3 pencilan spesimen klinikal (HSB 1, HKL 48 dan HKL 95) dan 3 pencilan spesimen persekitaran (PHS 2, PHS 11 dan PHS 15) telah diuji ketahanannya pada suhu 30°C, 37°C dan 42°C. Sista *Acanthamoeba* pencilan disubkultur ke dalam agar tanpa nutrien. Kultur *Acanthamoeba* masing-masing dieram pada suhu 30°C, 37°C dan 42°C. Pemerhatian menggunakan mikroskop *inverted* dilakukan setiap hari selama 14 hari bagi melihat perubahan sista kepada trofozoit. Plat yang tidak mengalami pertumbuhan akan dikultur dan dieram semula pada suhu 30°C, untuk melihat kebolehidupannya pada suhu tersebut.

Hasil kajian ini mendapati semua pencilan berupaya tumbuh pada tubuh badan manusia memandangkan kebolehannya tumbuh pada 37°C (Jadual 1). Walaupun tiada pencilan yang dapat tumbuh pada suhu tinggi iaitu 42°C, pencilan ini masih mempunyai potensi menyebabkan penyakit apabila berada dalam tubuh manusia kerana kebolehidupannya (Jadual 2). Suhu optimum bagi pertumbuhan *Acanthamoeba* adalah pada 30°C, oleh itu semua pencilan dapat tumbuh pada suhu ini (Schuster & Visvesvara 1998). Namun, kajian ini menunjukkan pada suhu 37°C juga merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan *Acanthamoeba* yang diuji. Pada keadaan ini, *Acanthamoeba*

JADUAL 1. Pertumbuhan *Acanthamoeba* pada suhu 30°C, 37°C dan 42 °C

Pencilan	Suhu (°C)		
	30	37	42
HSB 1	+	+	-
HKL 48	+	+	-
HKL 95	+	+	-
PHS 2	+	+	-
PHS 48	+	+	-
PHS 15	+	+	-

Petunjuk:

- + Kehadiran trofozoit
- Tiada trofozoit

JADUAL 2. Kebolehidupan sista *Acanthamoeba* terhadap suhu

Pencilan	Suhu (°C)		
	30	37	42
HSB 1	+	+	+
HKL 48	+	+	+
HKL 95	+	+	+
PHS 2	+	+	+
PHS 48	+	+	+
PHS 15	+	+	+

Petunjuk:

- + Kehadiran trofozoit
- Tiada trofozoit

wujud pada peringkat aktif trofozoit yang berkebolehan menyebabkan patologi dalam tubuh manusia.

Pada suhu 42°C, tiada kehadiran trofozoit yang dapat dikesan (Jadual 1). Walau bagaimanapun, sista *Acanthamoeba* tersebut masih hidup apabila dititiskan semula dengan *E. coli* dan dieram semula pada suhu 30°C. Ini menunjukkan kebolehidupan sista dan dinding sista berperanan sebagai pelindung *Acanthamoeba* pada suhu tinggi. Pada keadaan yang melampau, *Acanthamoeba* wujud dalam keadaan dorman bagi meneruskan kemandirian. Apabila keadaan persekitaran kembali sesuai, eksistasi akan berlaku dan pertumbuhan diteruskan (Chaves-Munguia et al. 2007). Menurut Griffin (1972), trofozoit *Acanthamoeba* boleh berubah kepada peringkat sista semasa pesakit demam dan menyebabkan penyakit selepas ia bereksistasi. Maka, terdapat kemungkinan bahawa pencilan ujian ini mampu menyebabkan penyakit walaupun tidak tumbuh pada suhu 42°C berdasarkan kebolehidupan sista dalam ujian ini.

Menurut Khan et al. (2001), pertumbuhan pada suhu yang tinggi merupakan salah satu piawai dalam menentukan patogenisiti *Acanthamoeba*. Namun, terdapat kajian yang menunjukkan sebaliknya. Menurut kajian Booton et al. (2004), pencilan patogenik dari genotip T4 cenderung untuk tumbuh pada suhu yang lebih rendah daripada 37°C. Ujian ketahanan suhu penting sebagai ujian saringan bagi menentukan potensi patogenisiti, namun ia mesti dikaitkan dengan parameter lain (Costa et al. 2010).

Daripada ujian ketahanan suhu ini, tiada perbezaan antara hasil kajian pencilan spesimen klinikal dan persekitaran. Pencilan spesimen persekitaran masih belum diketahui potensi patogenisitinya, namun ia berpotensi menyebabkan penyakit kerana kemampuannya hidup pada suhu badan manusia. Sementara pencilan spesimen klinikal mempunyai potensi patogenik. Hasil kajian ini telah menunjukkan terdapat persamaan ciri fisiologi iaitu dari aspek ketahanan suhu antara pencilan spesimen persekitaran dan klinikal. Kebolehan spesimen pencilan persekitaran menyebabkan penyakit harus diberi perhatian dan faktor risiko pendedahan terhadap *Acanthamoeba* harus dielakkan.

RUJUKAN

- Booton, G.C., Rogeson, A., Bonilla, T.D., Seal, D.V., Kelly, D.J., Beathe, T.K., Tomlinson, A., Lares-Villa, F. Fuerst, P.A. & Byers, T.J. 2004. Molecular and physiological evaluation of subtropical environment isolate of *Acanthamoeba* spp. causal agent of *Acanthamoeba* keratitis. *J. Eukaryote Microbiol* 51: 192-200.
- Chaves-Munguia, B., Omana-Molina, M., Gonzalez-Lazaro, M., Gonzalez-Robles, A., Cedillo-Rivera, R., Bonilla, P. & Martinez-Palamo, A. 2007. Ultrastructure of cyst differentiation in parasitic protozoa. *Parasitol Res* 100: 1169-1175.
- Costa, A.O., Castro, E.A., Ferrira, G.A., Furst, C., Crozata, M.A. & Thomaz-Soccol, V. 2010. Characterization of *Acanthamoeba* isolates from dust of a public hospital in

- Curitiba, Parana, Brazil. *J. Eukaryot. Microbiol.* 57(1): 70-75.
- Gianinazzi, C., Schild, M., Wuthrich, F., Muller, N., Schurch, N. & Gottstein, B. 2009. Potentially human pathogenic *Acanthamoeba* isolated from a heated indoor swimming pool in Switzerland. *Experimental Parasitology* 121: 180-186.
- Griffin, J. L. 1972. Temperature tolerance of pathogenic and nonpathogenic free-living amoebas. *Science* 178: 869-870.
- Ibrahim, Y.W., Boase, D.L. & Cree, I.A. 2007. Factors affecting the epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmic Epidemiology* 14: 53-60.
- Khan, N.A. 2001. Pathogenicity, morphology and differentiation of *Acanthamoeba*. *Current Microbiology* 43: 391-395.
- Khan, N.A. 2003. Pathogenesis of *Acanthamoeba* infections. *Microbial Pathogenesis* 34: 277-285.
- Khan, N.A. 2006. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. *FEMS Microbiol Rev* 30: 564-595.
- Khan, N.A., Jarroll, E.L. & Paget, T.A. 2002. Molecular and physiological differentiation between pathogenic and nonpathogenic *Acanthamoeba*. *Current Microbiology* 45: 197-202.
- Pumidonming, W. 2009. *Acanthamoeba* strains show reduced temperature tolerance after long-term axenic culture. *Parasitol Res* 106(3): 553-559.
- Schuster, F.L. 2002. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amoebas. *Clinical Microbiology Reviews* 15(3): 342-354.
- Schuster, F.L. & Visvesvara, G.S. 1998. Efficacy of novel antimicrobial against clinical isolates of opportunistic amoeba. *J. Eukaryote Microbiol* 45: 612-618.
- Schuster, F.L. & Visvesvara, G.S. 2004. Free living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *International Journal of Parasitology* 34: 1001-1027.
- Szenasi, Z., Endo, T., Yagita, K. & Nagu, E. 1998. Isolation, identification and increasing importance of 'free-living' amoebae causing human disease. *J. Med. Microbiol* 47: 5-16.
- Tsvetkova, N., Schild, M., Panaiotov, S., Kurdova-Mintcheva, R., Gottstein, B., Walochnik, J., Aspöck, H., Lucas, M.S. & Muller, N. 2004. The identification of free-living environmental isolates of amoebae from Bulgaria. *Parasitol Res* 92: 405-413.
- Visvesvara, G.S., Moura, H. & Schuster, F.L. 2007. Pathogenic and opportunistic free living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillae*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 50: 1-26.

Nurul Farhana Jufri
 Mohamed Kamel Abd Ghani
 Jabatan Sains Bioperubatan
 Fakulti Sains Kesihatan Bersekutu
 Universiti Kebangsaan Malaysia
 50300 Jalan Raja Muda Abdul Aziz
 Kuala Lumpur, Malaysia.

Anisah Nordin
 Yusof Suboh
 Noraina Ab Rahim
 Jabatan Parasitologi Perubatan
 Fakulti Perubatan
 Universiti Kebangsaan Malaysia
 50300 Jalan Raja Muda Abdul Aziz
 Kuala Lumpur, Malaysia.

Corresponding author: Anisah Nordin
 Email address: anisah@medic.ukm.my
 Tel: 603-92897547; Fax: 603-26982640

Received: August 2010
 Accepted for publication: September 2010