

Keberkesanan Amphotericin B terhadap Sista *Acanthamoeba* spp. Isolat klinikal

The Effectiveness of Amphotericin B on Clinical Isolates of *Acanthamoeba* spp.

MOHAMED KAMEL ABD GHANI*, NORAMALINA, ANISAH NORDIN, YUSOF SUBOH, NORAINA ABD RAHIM & NORAZAH AHMAD

ABSTRAK

Acanthamoeba spp. boleh mengakibatkan keratitis kepada manusia yang sihat, malah berisiko tinggi kepada pemakai kanta sentuh yang tidak menitikberatkan kebersihan. Kajian ini bertujuan untuk mengkaji keberkesanan Amphotericin B terhadap sista *Acanthamoeba* isolat klinikal iaitu HKL 5, HKL 11, HKL 32, dan HKL 51. Kajian ini dimulakan dengan melakukan suspensi sista terhadap keempat-empat isolat klinikal tersebut. Mikropencapaian terhadap antimikrob dilakukan dan kemudiannya suspensi sista ditambah, seterusnya dieramkan selama 24 jam pada 30°C sebelum dipindahkan ke atas plat agar bukan nutrien (NNA) yang dilapisi *E. coli* matian haba. Plat agar diperhatikan setiap hari sehingga hari yang ke-14 untuk mengesan kehadiran trofozoit di bawah mikroskop kebalikan. Amphotericin B tidak berkesan terhadap sista *Acanthamoeba* isolat klinikal dalam kajian ini.

Kata kunci : Amphotericin B; *Acanthamoeba*: isolat klinikal

ABSTRACT

Acanthamoeba spp. may infect healthy individual and cause keratitis especially amongst the contact lens wearers who do not practice good care. This study aims to evaluate the effectiveness of Amphotericin B on four clinical isolates of *Acanthamoeba* cysts consisting HKL 5, HKL 11, HKL 32, and HKL 51. Cysts suspensions of all 4 clinical isolates of *Acanthamoeba* were prepared. Microdilution of antimicrobial was prepared, and cyst suspension was added and later incubated at 30°C for 24 hours before being transferred onto non-nutrient agar (NNA) plates seeded with heat-killed *E. coli*. The plates were observed daily until day 14 to detect the presence of trophozoites under inverted microscope. From this study, Amphotericin B was not effective against all clinical isolates of *Acanthamoeba* cysts in this study.

Keywords : Amphotericin B; *Acanthamoeba*: clinical isolates

PENDAHULUAN

Acanthamoeba adalah patogen oportunistik yang boleh menyebabkan penyakit keratitis *Acanthamoeba* (AK), Ensefalitis Amebik bergranuloma (GAE) serta lesi kutaneus pada manusia. (Khan 2006; Visvesvara *et al.* 2007). *Acanthamoeba* keratitis (AK) biasanya adalah berkaitan dengan pemakaian kanta sentuh (Gagnon & Walter 2006) dan ini dianggap sebagai faktor risiko paling penting terhadap berlakunya keratitis ini.

Pemakaian kanta sentuh kini semakin popular di seluruh dunia (Hay *et al.* 1994), yang bertujuan untuk menambahbaik penglihatan dan juga untuk kepentingan kosmetik. Menurut Anne (2001), 5% daripada populasi rakyat Malaysia gemar memakai kanta sentuh. Peningkatan penggunaan kanta sentuh juga dilihat selari dengan peningkatan prevalens keratitis *Acanthamoeba*

Di Malaysia, sejak kes pertama dilaporkan pada tahun 1995 (Kamel & Norazah, 1995), bilangan kes keratitis *Acanthamoeba* terus meningkat sejajar dengan peningkatan penggunaan kanta sentuh (Kamel *et al.* 2005). Masalah rawatan yang berkesan juga membimbangkan kerana kebanyakan *Acanthamoeba* rintang terhadap pelbagai agen antimikrob. Salah satu agen antimikrob yang pernah digunakan dalam rawatan Ensefalitis Amebik bergranuloma (GAE) ialah Amphotericin B (Naveed 2006). Oleh yang demikian, kajian untuk menguji keberkesanan Amphotericin B terhadap isolat klinikal *Acanthamoeba* tempatan dilakukan dalam kajian ini.

BAHAN DAN KAEDAH

Isolat klinikal *Acanthamoeba* yang digunakan dalam kajian ini diperolehi daripada makmal

Acanthamoeba, Jabatan Parasitologi Perubatan, Fakulti Perubatan UKM. Isolat terdiri daripada HKL 5, HKL 11, HKL 32, dan HKL 51, dan ujian keberkesanan dilakukan dengan menggunakan Amphotericin B 10mg/ml dan Hidrogen peroksida 3% sebagai kawalan positifnya. Kaedah penentuan keberkesanan agen antimikrob ini adalah berdasarkan kaedah Narasimhan dan rakan-rakan (2002).

Suspensi sista *Acanthamoeba* divorteks selama 1 minit sebelum digunakan supaya sista bertaburan sama rata dalam larutan salin PAGE. Sebanyak 10 µl suspensi sista dipipet masuk ke dalam telaga mikrotiter yang telah mengandungi 100 µl Amphotericin B dan campuran dieramkan selama 24 jam.

Seterusnya sista dipindahkan terus ke atas agar bukan nutrien (NNA) yang telah dititiskan dengan suspensi *E. coli* matian haba dan

diperhatikan setiap hari selama 14 hari di bawah mikroskop kebalikan untuk mengesan kehadiran trofozoit *Acanthamoeba*. Jika tiada pertumbuhan trofozoit *Acanthamoeba* berlaku dalam masa 14 hari, maka agen antimikrob yang diuji adalah berkesan dalam membunuh atau merencat pertumbuhan sista *Acanthamoeba*.

HASIL KAJIAN

Agar bukan nutrien (NNA) yang mengandungi sista *Acanthamoeba* dan *E. coli* matian haba dieram dan diperhatikan di bawah mikroskop *inverted* selama 14 hari untuk menentukan keberkesanan agen antimikrob terhadap sista tersebut. Setelah diuji, Amphotericin B 10mg/ml didapati tidak berkesan membunuh sista *Acanthamoeba* seperti dalam Jadual 1.

JADUAL 1. Ujian keberkesanan Amphotericin B terhadap sista *Acanthamoeba* spp. isolat klinikal.

Isolat	Amphotericin B (10mg/ml)	Kawalan positif Hidrogen peroksida 3%
HKL 5	X	√
HKL 11	X	√
HKL 32	X	√
HKL 51	X	√

Petunjuk:

- √ Berkesan (Trofozoit tidak hadir)
X Tidak berkesan (Trofozoit hadir)

PERBINCANGAN

Amphotericin B telah pernah digunakan dalam rawatan *Primary Amoebic Meningoencephalitis* (PAM) akibat jangkitan sejenis ameba hidup bebas seperti *Acanthamoeba* iaitu *Naegleria fowleri* (Matthew et al. 2015). Selain daripada itu, kajian Siddiqui et al. 2016 juga telah menunjukkan bahawa Amphotericin B mempunyai kesan anti-*Acanthamoeba* pada kepekatan 100µg/ml. Amphotericin B adalah fungistatik dan juga fungisidal yang digunakan sebagai rawatan jangkitan *Naegleria* spp. *Naegleria* merupakan protozoa hidup bebas sama seperti *Acanthamoeba*.

Oleh kerana Amphotericin belum pernah digunakan untuk rawatan jangkitan *Acanthamoeba* di Malaysia, maka kajian ini dilakukan. Amphotericin B, sejenis polyene,

boleh mengikat secara tidak berbalik kepada ergosterol menyebabkan kerosakan kepada integriti membran dan akhirnya kematian sel (Siddiqui et al. 2016).

Bagaimanapun dalam kajian ini, Amphotericin B 10mg/ml didapati tidak berkesan terhadap kesemua sista *Acanthamoeba* strain klinikal. Perbezaan strain *Acanthamoeba* dalam kajian ini berbanding kajian yang lepas mungkin berperanan dalam memberi hasil keputusan sebegini.

RUJUKAN

- Anne, C.K.T. 2001. Visual benefits with contact lenses. *Medical Journal of Malaysia supplement*. 56:37.
Gagnon, M. R. & Walter, K. A. 2006. A case of *Acanthamoeba* keratitis as a result of a

- cosmetic contact lens. *Eye and Contact Lens*. 32(1):37-38.
- Hay, J., Kirkness, C. M., Seal, D. V., Wright, P. 1994. Drug resistance and *Acanthamoeba* keratitis: the quest for alternative antiprotozoal chemotherapy. *Eye*. 8:555– 563.
- Kamel, A.G.M, & Norazah, A. 1995. First case of *Acanthamoeba* keratitis in Malaysia. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89:652.
- Kamel A.G.M, Haniza, H. Anisah, N. Yusof, S. Faridah, H. Norhayati, M. & Norazah, A. 2005. More *Acanthamoeba* keratitis cases in Malaysia. *International Medical Journal* 12 (1): 7-9.
- Naveed A.K. 2006 *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health *FEMS Microbiol Rev* 30(2006) 564–595.
- Matthew Linam , Mubbasheer Ahmed, Jennifer R. Cope, Craig Chu, Govinda S. Visvesvara, Alexandre J. da Silva, Yvonne Qvarnstrom, Jerril Green. 2015. Successful treatment of an adolescent with *Naegleria fowleri* primary amebic meningoencephalitis. *PEDIATRICS* 135:3; DOI:10.1542/peds.2014-2292
- Narasimhan, Sandhya, M. S., Madhavan, Hajib, N. M. D. & Therese, K. L. 2002. Development and application of an in vitro susceptibility test for *Acanthamoeba* species isolated from keratitis to polyhexamethylene biguanide and chlorhexidine. *Journal of Cornea and External Disease* 21(2):203-205.
- Siddiqui R, Aqeel Y, Khan NA. 2016. The development of drugs against *Acanthamoeba* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2016:60:6441–6450. doi:10.1128/ AAC.00686-16.
- Visvesvara, G.S., Moura, H., & Schuster, F.L. 2007. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *Federation of European Materials Societies of Immunology and Medical Microbiology*. 50: 1–26

MOHAMED KAMEL ABD GHANI*
 NORAMALINA
 ANISAH NORDIN
 YUSOF SUBOH
 NORAINA ABD RAHIM
 NORAZAH AHMAD

Fakulti Sains Kesihatan,
 Universiti Kebangsaan Malaysia,
 50300 Jalan Raja Muda Abdul Aziz,
 Kuala Lumpur

Jabatan Parasitologi,
 Fakulti Perubatan,
 Universiti Kebangsaan Malaysia

Institut Penyelidikan Perubatan,
 Jalan Pahang,
 Kuala Lumpur

*Corresponding author: profkamel@ukm.edu.my, mohamedkamela@yahoo.com
 Tel: 603-92897634 Fax: 603-26929032