

PERANAN *FREE LIVING AMOEB*A - *ACHANTAMOEB*A SEBAGAI PATOGEN PENYEBAB KELAINAN PADA OTAK DAN MATA

Ryan Halleyantoro^{1,2}; Ika Puspa Sari³

Mahasiswa PPDS Parasitologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia¹;

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro²;

Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia³

Corresponding email: haleyantoro@fk.undip.ac.id

Abstract

The free-living amoeba (FLA) group of protozoa that can be found in various types of conditions in nature, one of which is the genus *Acanthamoeba*. Although, the number of infections caused by this protozoan is low, the diagnosis was still difficult to confirm and therefore there were a higher mortality, especially those associated with encephalitis. This review presents some information about the biology, pathogenesis, clinical symptoms caused by *Acanthamoeba* in humans, as well as diagnostic and therapeutic methods. *Acanthamoeba* infection in humans can cause disorders such as granulomatous amoebic encephalitis (GAE), *acanthamoeba* keratitis and cutaneous *acanthamoeba*. In addition, this parasite can also act as a vector of pathogens.

Keywords: *Free living amoeba*, *Acanthamoeba*, Ensefalitis, Keratitis

Abstract

Free Living Amoeba (FLA) merupakan kelompok protozoa yang dapat ditemukan di berbagai jenis kondisi di dalam alam salah satunya adalah genus *Acanthamoeba*. Meskipun, jumlah infeksi yang disebabkan oleh protozoa ini rendah, diagnosis nya masih sulit untuk dikonfirmasi sehingga terdapat mortalitas yang lebih tinggi, terutama yang terkait dengan ensefalitis. Tinjauan kali ini, menyajikan beberapa informasi tentang biologi, patogenesis, gejala klinik yang disebabkan oleh *Acanthamoeba* pada manusia, serta metode diagnosis dan terapinya. Infeksi *Acanthamoeba* pada manusia dapat menyebabkan kelainan seperti *granulomatous amoebic encephalitis* (GAE), keratitis *acanthamoeba* dan cutaneous *acanthamoeba*. Selain itu parasit ini juga dapat berperan sebagai vektor patogen.

Keywords: *Free living amoeba*, *Acanthamoeba*, Ensefalitis, Keratitis

PENDAHULUAN

Free Living Amoeba (FLA) adalah kelompok protozoa yang heterogen dan dapat ditemukan dalam berbagai jenis kondisi di dalam alam.¹ Mereka dapat ditemukan pada tanah, debu, air laut, air minum, kolam renang, limbah, larutan pencuci mata, lensa kontak, alat dialisis dan pada alat perawatan gigi.² FLA dapat menyelesaikan siklus hidup mereka di lingkungan tanpa membutuhkan organisme/inang.³ Berbeda dengan parasit *Entamoeba histolytica*, amobae yang hidup bebas adalah organisme aerobik yang dapat menyelesaikan siklus hidupnya masing-masing di lingkungan tanpa inang. Amebae ini juga disebut ameba amphizoic karena kemampuannya untuk hidup secara normal sebagai organisme yang hidup bebas, namun mereka mampu bertahan dalam jaringan manusia dan hewan lain.⁴

Di antara amoeba ini, *Acanthamoeba*, *Naegleria fowleri*, dan *Balamuthia mandrillaris* muncul sebagai yang paling sering terkait dengan infeksi pada manusia.⁴ *Acanthamoeba spp.* Sering dikaitkan dengan penyakit seperti *granulomatous amoebic encephalitis* (GAE), lesi kulit, kelainan pada nasofaring, paru dan ginjal serta keratitis amoeba. Selain itu *Acanthamoeba* juga dapat menjadi karier dari berbagai bakteri seperti *Legionella spp.*, *Vibrio spp.* dan *Listeria spp.*²

Penyakit yang disebabkan oleh *Acanthamoeba* ini hanya sedikit sekali mendapat perhatian bahkan di negara maju karena kurangnya informasi mengenai parasit ini. Insidensi penyakit yang disebabkan protozoa ini sangat bervariasi (3-15% di Inggris dan Amerika Serikat). Angka insidensi sangat bergantung pada virulensi strain *Acanthamoeba*, faktor resiko seperti air terkontaminasi yang ada pada lingkungan serta iklim di negara tersebut.⁵ Namun demikian karena infeksi ini terjadi pada orang dengan gangguan sistem kekebalan maka diduga lebih banyak kasus pada negara-negara tempat terjadinya epidemi HIV. Keahlian diagnostik yang terbatas di banyak negara ini, digabungkan dengan sumber daya yang terbatas untuk diagnosis berkontribusi pada kurangnya pengetahuan kita tentang insidensi infeksi parasit ini.⁴

Ulasan ini bertujuan untuk membahas aspek penyakit akibat parasit ini terutama dalam hal biologi, patogenesis serta gejala klinik.

PEMBAHASAN

1. Morfologi dan Karakteristik *Acanthamoeba*

Acanthamoeba ada dalam dua bentuk yang berbeda: trofozoit yang aktif mengambil makanan dan membelah diri serta stadium kista yang tidak aktif. Trofozoit *Acanthamoeba* dengan proyeksi permukaan seperti duri yang disebut acanthopodia berukuran dari 14-40 µm. Trofozoit secara aktif memakan partikel organik serta mikroba lain seperti bakteri, alga dan ragi yang ada di lingkungan.⁶ Kista terbentuk pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Kista tersebut memiliki dinding 2 lapis. Endokista atau dinding kista bagian dalam biasanya tebal, berbentuk bintang, poligonal, bulat, atau oval dan terdiri dari selulosa, sedangkan dinding luar (ektokista) biasanya tipis, berkerut, dan tersusun dari protein. Stadium kista dapat menahan kondisi lingkungan yang sangat keras termasuk radiasi ultraviolet dosis tinggi dan radiasi sinar gamma. Kista masih tetap hidup bahkan setelah radiasi gamma dengan dosis 250.000 rad, dimana dosis tersebut 100 kali lebih tinggi dari dosis mematikan bagi manusia. Stadium ini juga dapat bertahan hidup secara in vitro selama lebih dari 20 tahun, pada suhu rendah (0–2°C), dan juga menunjukkan ketahanan terhadap biosida seperti klorinasi dan antibiotik.^{6–8}

Berdasarkan bentuk morfologi kista, maka spesies *Acanthamoeba* dapat dibagi menjadi tiga kelompok morfologi: kelompok I (endokista stelata dan ektokista yang terpisah dengan baik), kelompok II (endokista polimorfik berlempang dan biasanya ektokistanya berkerut), dan kelompok III (endokista bulat tanpa lempang dan biasanya ektokista halus). Perkembangan studi biomolekuler yang ada saat ini hanya mampu mengkonfirmasi sebagian klasifikasi morfologi. Namun demikian studi ini sudah dapat mengungkapkan bahwa di satu sisi beberapa spesies polifiletik dan di sisi lain ada garis keturunan tambahan. Hal ini menyebabkan identifikasi dan klasifikasi strain dari *Acanthamoeba* disusun kembali berdasarkan urutan lengkap gen SSU rRNA (18S rDNA), di mana jenis urutan 18S (genotipe) yang berbeda pada masing-masing akan sesuai dengan spesies yang diduga berbeda.⁹ Baru-baru ini, lebih dari 25 spesies *Acanthamoeba* tercatat dalam database taksonomi NCBI dan 20 genotipe teridentifikasi dimana T4 adalah genotipe utama terkait dengan infeksi manusia.¹⁰

2. Endosimbion *Acanthamoeba*

Sama seperti inang mamalia yang memiliki mikrobioma yang unik, trofozoit *Acanthamoeba* juga memiliki mikrobioma sendiri berupa bakteri endosimbiotik. Hal ini dapat memberikan dampak yang berbeda. Karena sebagian besar patogen *Acanthamoeba* ada di dalam tanah, dan predator fagositik lainnya mungkin memakan beberapa mikroorganisme. Mikroorganisme resisten amoeba mungkin

dapat muncul karena perilaku predator amoeba pada mikroorganisme. Sekitar 22% dari isolat *Acanthamoeba* memiliki beberapa endosimbion bahkan dengan lebih dari 30 spesies bakteri yang diketahui merupakan patogen. Banyak bakteri patogen seperti *Chlamydomphila*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Candidatus*, *Paracaedibacter symbiosus*, *Betaproteobacterium*, *Amoebophilus asiaticus*, *Salmonella* dan *Vibrio* dikenal sebagai endosimbion dari *Acanthamoeba*. Patogen ini memiliki kemampuan untuk bereplikasi di dalam FLA, seperti *Acanthamoeba spp.*, dan dapat lolos dari aktivitas mikrobisidal organisme ini menggunakan mekanisme yang mirip dengan yang digunakan untuk bertahan hidup dalam makrofag. Sehingga beberapa spesies bakteri ini dapat menghindari pencernaan intraseluler oleh trofozoit dan menetap di dalam sitoplasma *Acanthamoeba spp.*^{7,8,11}

Endosimbion dapat mempengaruhi patogenitas dan resistensi *Acanthamoeba* terhadap agen terapeutik. Dalam proses simbiosis ini, virulensi amoeba tampaknya meningkat, karena *Acanthamoeba* yang bebas dari endosimbion telah dilaporkan memiliki kemampuan yang lebih rendah untuk menghasilkan efek sitopatik pada studi menggunakan kultur fibroblast. Ini memperkuat hipotesis pertukaran gen alopatrik antara *Acanthamoeba* dan parasit intraselulernya. Sebuah studi klinis terhadap 23 pasien keratitis amoeba menemukan bahwa lebih dari setengah dari isolat *Acanthamoeba* dari lesi kornea mengandung setidaknya satu endosimbion. Endosimbion bakteri dapat menyebabkan peningkatan sitopatogenisitas dari trofozoit *Acanthamoeba* in vitro. Dasar molekuler peningkatan sitopatogenisitas yang terkait dengan endosimbion bakteri masih belum diketahui, tetapi diduga bahwa molekul seperti manosa yang ada di dinding sel endosimbion mungkin merangsang elaborasi protease patogen oleh trofozoit yang berfungsi sebagai inang untuk endosimbion.^{8,11}

Baru-baru ini, telah diamati bahwa kontaminasi air oleh FLA dapat menjadi masalah penting untuk munculnya epidemi. Tidak hanya karena mereka berpotensi menjadi patogen bagi manusia, tetapi juga menjadi tuan rumah dan melindungi mikroorganisme lainnya. Dengan demikian, beberapa bakteri patogen, jamur dan virus telah mengembangkan strategi untuk melakukan evasi dari mekanisme inaktivasi *Acanthamoeba*, dengan menggunakan amoeba sebagai reservoir untuk keuntungannya sendiri; atau sebagai "kuda Troya. Setelah beradaptasi dengan lingkungan intraseluler amoeba, patogen ini relatif terlindungi dari biosida dan kondisi lingkungan, membuat kelangsungan hidup dan penyebarannya lebih efektif. Karena hubungan yang luas dengan berbagai patogen ini, salah satu

spesies *Acanthamoeba* yaitu *A. castellanii* sering digunakan sebagai model amoeboid untuk mempelajari interaksi parasit dengan inang.¹¹

3. Infeksi *Acanthamoeba* pada manusia

Beberapa spesies *Acanthamoeba* dapat menyebabkan *Granulomatous Amoebic Encephalitis* (GAE), infeksi pada nasopharyngeal dan kutaneus acanthamoebiasis yang biasanya terjadi pada pasien *immunocompromised* dan keratitis amoeba akibat pemakaian lensa kontak. Namun demikian, mengingat banyaknya peluang untuk kontak dengan amoeba, infeksi *Acanthamoeba* justru jarang ditemui pada manusia dan hewan. 80% populasi manusia normal bahkan memiliki antibody terhadap *Acanthamoeba*. Oleh karena itu, patogenisitas *Acanthamoeba* merupakan hasil dari beberapa proses, yang harus terjadi bersamaan dan bergantung pada kapasitas adhesi mukosa dan migrasi jaringannya.²

3.1. Granulomatous Amoebic Encephalitis

Acanthamoeba menyebabkan GAE yang jarang namun fatal terutama di antara pasien dengan gangguan sistem imun. Terdapat sekitar 500 kasus GAE yang telah ditemukan di seluruh dunia dengan survival rate kurang dari 10%.¹² Angka kematian GAE adalah sekitar 97-98%. Kasus GAE kebanyakan terjadi di antara pasien yang mengalami gangguan imun; kasus pasien imunokompeten dengan GAE juga telah dilaporkan.⁷ GAE adalah penyakit oportunistik dan fatal yang dapat terjadi kapan saja sepanjang tahun. Pintu masuk infeksi untuk kedua organisme bisa melalui lesi kulit yang terkontaminasi dengan tanah, atau sebagai kista yang masuk ke saluran pernapasan. Hubungan antara kontak air dan infeksi belum dilaporkan, tetapi ini bisa menjadi kemungkinan jalur infeksi. GAE paling sering terjadi, pada manusia dengan fungsi metabolisme, fisiologis, atau imunologis yang terganggu karena HIV / AIDS atau pada mereka yang sakit kronis, diabetes, atau individu yang melakukan transplantasi organ, atau dalam keadaan lemah.¹³

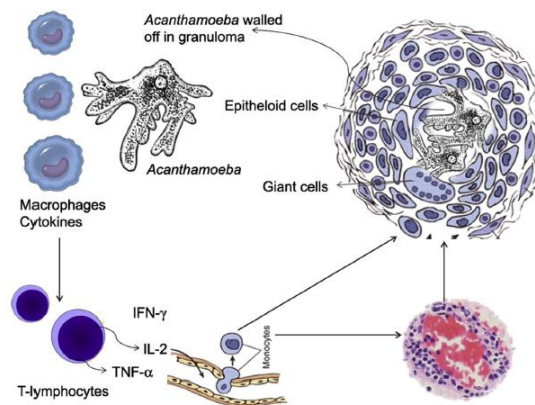
GAE berbeda dari penyakit neurologis granulomatosa lain yang sering terjadi (misal: Jamur dan tuberkulosis), dalam hal ini, GAE akan mengakhiri kehidupan inang menjelang perubahan gliotik / fibrotik khas yang muncul sebagai hasil akhir dari lesi granulomatosa. Kebanyakan pasien menderita kejang, dan defisit neurologis fokal, disertai kehilangan kesadaran, edema serebral dengan hipertensi intrakranial, yang pada akhirnya menyebabkan kematian otak. Beberapa bukti menunjukkan bahwa amoeba yang menyerang paru-paru / kulit mendapatkan akses ke ruang intravaskular, diikuti oleh penyebaran hematogen, yang mengarah ke interaksi dengan sawar darah-otak dan akhirnya menyerang sistem saraf pusat (SSP) untuk menginduksi penyakit.¹⁴

Acanthamoeba seringkali tidak ditemukan di cairan otak, namun demikian pada sebagian kecil kasus protozoa ini berhasil diisolasi dari cairan otak. Otopsi otak menunjukkan adanya edema serebral, area pelunakan ganglia kortikal dan basal, dan beberapa area nekrotik dan hemoragik di jaringan SSP. Batang otak, hemisfer serebral, dan serebelum mungkin menunjukkan area infark hemoragik. Nekrosis hemoragik dan infiltrat inflamasi terdiri dari neutrofil, makrofag yang mengandung lipid, sel mononuklear, dan sel raksasa berinti banyak. Sel raksasa berinti banyak yang membentuk granuloma terlihat di jaringan dari pasien imunokompeten, tetapi lebih jarang pada individu dengan gangguan sistem imun.¹³

Berdasarkan temuan histopatologi, terdapat dua kemungkinan rute untuk invasi SSP oleh *Acanthamoeba*, yaitu jalur transendotelial dan rete vasorum atau kombinasi keduanya. Hal ini mungkin menjelaskan periode laten yang signifikan dari beberapa bulan hingga tahun sebelum munculnya manifestasi neurologis. Pada rute transendotelial untuk mengakses dinding pembuluh darah, trofozoit harus bersentuhan dengan glikokaliks endotel. Sirkulasi otak, karena aliran darah anti-gravitasi di jaringan otak yang lebih dalam, serta pembuluh darah tampaknya menjadi tempat yang ideal untuk kontak tersebut. Terjadinya GAE pada pasien dengan penyakit terkait vaskulitis seperti lupus erthromatosis sistemik dan diabetes mellitus juga dapat menjelaskan alasan cedera endotel sebagai faktor predisposisi untuk amuba dan interaksi endotel. Setelah terjadi kontak transien awal yang dimediasi oleh *Mannose Binding Protein* (MBP), dan *Laminin Binding Protein* (LBP), *Acanthamoeba* akan menunjukkan perlekatan yang erat pada sel-sel endotel.^{14,15}

Setelah amoeba ini melekat pada sel endotel maka akan mengakibatkan cedera endotel lebih lanjut untuk masuk ke dinding pembuluh darah, yaitu tunika media. Temuan ini akan mendukung gagasan bahwa cedera endotel adalah kemungkinan jalur untuk masuknya amoeba ke tunika media dan penjelasan etiologi untuk terjadinya trombus. Begitu berada di dalam dinding pembuluh darah, hambatan berikutnya bagi patogen ini adalah melawan serangan leukosit yang berusaha menahannya dengan pembentukan granuloma (gambar 1). Pembentukan granuloma oleh sistem kekebalan tubuh host, mungkin menjadi alasan utama untuk waktu transit hingga terjadi GAE secara penuh. Maset perivaskular dan granuloma yang mencegah akses amuba juga dapat menjelaskan keterlambatan signifikan yang diamati pada manifestasi sindroma GAE setelah akuisisi agen infeksi. Kemampuan amoeba untuk mengatasi upaya yang dimediasi kekebalan ini, kemungkinan besar dikaitkan dengan toksin ekstraseluler, pergerakan amoeboid, enzim sitotoksik, metaloproteinase, toksin pembentuk pori,

dll. Hal ini memungkinkan amoeba menembus granuloma untuk akhirnya mencapai dan merusak neuron di jaringan otak.^{7,14}



Gambar 1. Pembentukan Granuloma dari *Acanthamoeba*¹⁴

Kemungkinan yang kedua adalah rute *rete vasorum*. Akses ke dinding pembuluh darah oleh saluran vaskular kecil di dalam pembuluh yang lebih besar di otak disebut *rete-vasorum*, dan perjalanan di dalam zona ini akan membuat trofozoit ini langsung berakhir di jaringan serebral serta cairan serebrospinal tanpa perlu merusak sawar darah otak. Lapisan dinding pembuluh ini secara anatomis ditakdirkan untuk menghilang pada tingkat mikrosirkulasi seperti yang terlihat pada kapiler dari piamater jaringan otak. Jadi, setiap trofozoit yang ada di dalam lapisan ini secara anatomis akan berakhir di area di luar endotelium, yang berada di dekat neuron. Dengan cara ini, amoeba akan melewati pericytes dan ekstensi glial di sekitar endotel dari sawar darah-otak. Kebutuhan untuk keluar dari sirkulasi dan memasuki dinding pembuluh darah yang diadopsi oleh trofozoit ini tampaknya menjadi strategi yang jauh lebih unggul untuk menghindari komplemen dan leukosit yang ada dalam sirkulasi.¹⁴

Penghindaran sistem pertahanan inang ini memberinya kesempatan untuk mencapai organ tujuan tanpa melewati sawar darah-otak. Di dalam dinding pembuluh darah itu sendiri, amoeba akan diperangi oleh leukosit. Ada kemungkinan bahwa rute *rete-vasorum* ini dipilih oleh trofozoit amoeba, selain rute mikrovaskuler dari sawar darah-otak. Karena sawar darah otak berada pada jarak yang cukup jauh dari arteri serebral tengah, ini akan memberikan penjelasan alternatif tentang selang waktu yang terjadi antara akuisisi infeksi dan awal dari tanda dan gejala klinis GAE.^{7,14-16}

GAE adalah infeksi berbahaya dan berkembang sebagai penyakit kronis yang berlangsung dari beberapa minggu sampai bulan. Periode prodromalnya tidak diketahui. Gejala klinisnya bermacam-macam seperti: sakit kepala halus, demam, perubahan perilaku, hemiparesis, lesu, luka kaku, afasia, ataksia, muntah, mual, gangguan penglihatan, peningkatan tekanan intrakranial, dan pada tahap

selanjutnya kehilangan kesadaran, kejang, koma dan kematian.² Diagnosis GAE dapat ditegakkan dengan pemeriksaan histopatologi atau dengan isolasi patogen dari bahan biopsi otak. Temuan *Liquor Cerebrospinalis* (LCS) dan pemeriksaan radiologis tidak spesifik. Pencitraan kranial mungkin menunjukkan adanya abses, keterlibatan hemoragik atau tumor seperti adanya lesi massa. Lesi ini biasanya multifokal dan dapat diamati di korteks, batang otak atau sumsum tulang belakang. Peningkatan tekanan LCS, pleositosis dominan limfosit, kadar protein sedikit meningkat dengan penurunan glukosa ringan sering terjadi.¹⁷

3.2. Acanthamoebiasis Kulit

Acanthamoebiasis kulit adalah infeksi oportunistik yang jarang terjadi pada pasien *immunocompromised*, terutama pada pasien yang terinfeksi HIV. Lesi yang khas adalah nodul, pustula, papula, dan ulserasi kulit yang mengandung trofozoit dan kista *Acanthamoeba*. Tempat lesi yang paling terkena adalah wajah, batang tubuh, dan ekstremitas. Mereka jarang terjadi pada individu yang sehat. Pada pasien *immunocompromised*, parasit masuk ke aliran darah, diikuti oleh penyebaran hematogen ke jaringan yang berbeda. Pasien *immunocompromised* cenderung memiliki lesi kulit subakut multipel, tanpa keterlibatan sistem saraf pusat dan dengan respons yang baik terhadap terapi. Sebaliknya, pasien imunokompeten datang dengan onset lesi kulit kronis yang berbahaya, diikuti oleh gangguan sistem saraf pusat dan kematian. Secara umum, lesi kulit merupakan manifestasi lanjut dari acanthamebiasis diseminata, terutama pada pasien dengan GAE. Keterlibatan SSP menyebabkan kematian dalam beberapa minggu.^{2,18}

3.3. Keratitis *Acanthamoeba*

Berbeda dengan GAE, yang merupakan infeksi kronis, keratitis *acanthamoeba* adalah infeksi akut dan dapat terjadi pada individu yang imunokompeten. Penyakit ini dikaitkan dengan penggunaan lensa kontak atau adanya trauma kornea sebelumnya. Jika keratitis *acanthamoeba* tidak segera diobati, bisa terjadi hilangnya ketajaman penglihatan dan kebutaan.¹⁹

Faktor risiko utama adalah pemakaian lensa kontak dalam waktu lama, trauma kornea, pembilasan lensa kontak secara tidak steril, pembentukan biofilm pada lensa kontak dan berenang di air yang terkontaminasi dengan menggunakan lensa kontak. Biasanya, hanya satu mata yang terkena tetapi keratitis bilateral juga telah dilaporkan. Penularan *Acanthamoeba* ke kornea tergantung pada virulensi dan keadaan fisiologis kornea. Faktanya, trauma kornea merupakan prasyarat terjadinya

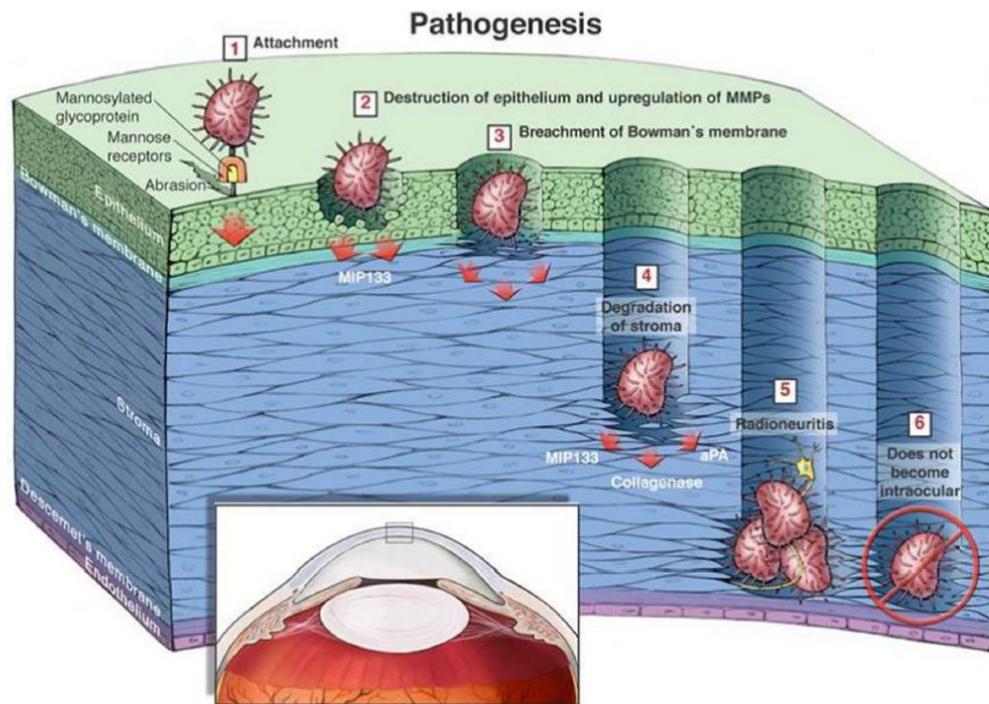
keratitis pada individu yang tidak menggunakan lensa kontak. Pada individu dengan keratitis achantamoeba, abrasi kornea terlibat dalam 85% dari penggunaan lensa kontak.²

Sifat merusak dari keratitis achantamoeba dan masalah yang terkait dengan diagnosis serta keberhasilan terapi menunjukkan perlunya pemahaman lengkap tentang patogenesis dan patofisiologi untuk menemukan alternatif pengobatan. Perhatian utama lainnya selama terapi adalah kemampuan *Acanthamoeba* untuk berubah menjadi bentuk kista yang tidak aktif, yang mungkin memiliki tingkat resistensi terhadap antimikroba yang direkomendasikan. Kemampuan *Acanthamoeba* untuk menghasilkan infeksi memerlukan adhesin spesifik, produksi toksin, dan kemampuannya untuk melawan faktor imun / lingkungan dan agen kemoterapi, yang kemungkinan memungkinkan patogen ini menghasilkan infeksi.²⁰

Acanthamoeba harus ada dalam tahap trofozoit untuk mengikat sel epitel kornea manusia. Ketika bentuk trofozoit dari *Acanthamoeba* menempel pada epitel kornea, mereka menghasilkan berbagai protease, yang memfasilitasi invasi kornea, menghasilkan sitolisis kornea yang dimediasi oleh parasit. Infeksi tersebut menyebabkan kerusakan epitel dan stroma kornea, infiltrasi sel inflamasi dan akhirnya, pembentukan descemetocoele dan perforasi. Limbitis dan skleritis juga dapat terjadi oleh reaksi imunologis sekunder atau melalui penyebaran infeksi langsung dari kornea.²

Urutan kejadian dalam patogenesis keratitis achantamoeba dimulai dengan pemakaian lensa kontak, yang menyebabkan peningkatan regulasi protein mannosilat pada epitel kornea dan kondisi permukaan mata agar lebih mudah menerima pengikatan trofozoit. Meskipun keausan lensa kontak mengatur ekspresi protein yang dimannosilasi, abrasi sederhana kornea pada kornea memiliki efek yang sama. Peningkatan AK pada non pemakai lensa kontak di Asia mungkin dapat dijelaskan dengan adanya lecet/lesi kornea pada pasien ini. Keterlibatan protein pengikat manosa pada membran sel trofozoit memunculkan pelepasan 133 protease KDa yang disebut *Mannose Inducing Protease-133* (MIP-133). Protein ini menginduksi apoptosis dan sitolisis sel epitel kornea dan memfasilitasi invasi trofozoit pada permukaan kornea dan erosi dari stroma yang mendasari. Strain patogen *Acanthamoeba* menghasilkan protease tambahan yang mempengaruhi stroma kornea termasuk aktivator plasminogen. MIP-133 akan mengarah pada "*stromal melting*" oleh degradasi matriks stroma kolagen. Trofozoit yang menumpuk di sekitar saraf kornea ini juga berhubungan dengan radial keratoneuritis dan nyeri yang luar biasa. (gambar 2) Trofozoit hampir tidak pernah berkembang ke daerah posterior mata. MIP-133

dan protease lain yang diuraikan oleh *Acanthamoeba* spp. adalah target terapeutik untuk mengelola keratitis achantamoeba.^{8,21}



Gambar 2. Patogenesis Keratitis *Acanthamoeba*²¹

Manifestasi klinis dimulai dengan kemerahan, lakrimasi, epifora, diptosis, hiperemia konjungtiva, sensasi benda asing, nyeri, fotofobia dan munculnya infiltrat cincin. Penyimpangan epitel dan lesi epitel pseudodendritik merupakan tahap awal penyakit ini. Biasanya, satu mata terlibat; Namun, keratitis bilateral juga dapat terjadi. Berbagai protease yang diproduksi oleh tropozoit *Acanthamoeba* menyebabkan sitolisis yang dimediasi oleh parasit pada kornea. Infeksi menghancurkan epitel dan stroma kornea, menyebabkan infiltrasi oleh sel inflamasi. Kelainan stroma seperti infiltrat numular dan keratoneuritis radial dapat terjadi. Keratoneuritis ditandai dengan infiltrat parasit linier, radial, bercabang di sepanjang saraf kornea ke stroma anterior, dengan reaksi pada *camera oculi anterior* dapat menyebabkan hipopion. Infiltrat stroma berbentuk cincin merupakan karakteristik terjadinya infeksi lanjut.¹³

4. Diagnosis

Sampel yang dikumpulkan untuk mendiagnosis GAE meliputi *Liquor Cerebrospinalis* (LCS), lesi dari kulit wajah atau ekstremitas, biopsi sinus atau paru-paru dan biopsi jaringan otak, yang dapat diperoleh saat operasi ataupun postmortem.⁷ Trofozoit dan kista *Acanthamoeba* pada kasus GAE dapat

dideteksi di jaringan otak atau pada sebagian kecil kasus pada LCS dengan mikroskop cahaya dan elektron. Pewarnaan histologis, seperti hematoxylin eosin (H&E), Periodic Acid Schiff, Gomori's methenamine silver atau trichrome, dapat digunakan untuk mengidentifikasi kista dalam biopsi atau otopsi jaringan otak. *Acanthamoeba* yang dapat dideteksi pada sedimen LCS menggunakan pewarnaan Giemsa.²

Salah satu alternatif metode diagnosis yang dapat membantu penegakkan diagnosis GAE adalah pemeriksaan molekuler. Pemeriksaan molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari DNA yang diekstraksi dari bahan biopsi saat ini sedang dikembangkan. Tes molekuler ini dapat membantu dalam identifikasi secara cepat *Acanthamoeba spp.* pada kasus yang dicurigai sehingga dapat membedakan ensefalitis amuba yang disebabkan oleh *Acanthamoeba* dari *B. mandrillaris* atau *N. Fowleri*. Hal ini akan membantu dalam memberikan pengobatan yang tepat lebih dini.^{2,7}

Dalam kasus yang dicurigai keratitis acanthamoeba, pemeriksaan diagnosis harus selalu dilakukan. Pada in vivo digunakan mikroskop confocal dan sebagai diagnostik in vitro, pemeriksaan histopatologi, PCR maupun kultur dapat dilakukan untuk membantu penegakkan diagnosis. Mikroskop confocal in vivo memiliki sensitivitas lebih dari 90% bila dilakukan oleh yang pemeriksa yang berpengalaman namun, hanya kista *Acanthamoeba* yang dikenali dengan baik menggunakan metode ini. Sedangkan pada pemeriksaan histopatologi, hanya memiliki sensitivitas sekitar 31 -65%. Kerokan kornea atau eksisi atau jaringan eksplan dari keratoplasti dapat dianalisis menggunakan asam periodik Schiff, Masson, Gram, Giemsa, Grocott methenamine silver, atau pewarnaan calcofluor-white. Pemeriksaan molekuler PCR dari kerokan kornea memiliki sensitivitas tertinggi 84 - 100% dan dapat memberikan hasil dalam waktu 60 menit. Namun, PCR mungkin memiliki kelemahan bahwa genom *Acanthamoeba* yang tidak hidup juga dapat memberikan hasil yang positif.²²

Pemeriksaan baku emas untuk keratitis Achantamoeba saat ini masih menggunakan teknik kultur. Bahan yang digunaka antara lain kerokan kornea/biopsi atau media pengangkut/lensa kontak/swab, dan lain-lain. Dalam kasus infeksi berat, amoeba biasanya sudah terlihat setelah 24-48 jam. Namun, sampel tetap harus diamati hingga 1 minggu untuk membuktikan hasil negatif secara akurat. Pada kultur, acanthamoebae membentuk kista dalam waktu kurang lebih 1 minggu (tergantung suhu dan ketersediaan nutrisi). Kista ini dapat diidentifikasi setidaknya sampai ke tingkat kelompok morfologi (*Acanthamoeba sp.* kelompok I-III) berdasarkan ukuran, morfologi dan jumlah opercula.²⁰

5. Pengobatan

Pengobatan dan pengelolaan GAE dan keratitis *Achantamoeba* sangat bergantung pada ketepatan diagnosis secara dini. Pengobatan GAE biasanya hanya berhasil pada kasus yang terjadi pada stadium awal. Namun demikian misdiagnosis sering terjadi karena gejala biasanya mirip dengan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan virus. Penegakkan diagnosis memerlukan peningkatan kesadaran dari para klinisi terhadap tanda dan gejala kasus-kasus yang dicurigai diakibatkan oleh *Achantamoeba* selain pemeriksaan laboratorium yang telah dijelaskan diatas .^{7,22}

Penemuan berbagai senyawa anti-acanthamoebic yang telah diuji secara in vitro ternyata belum dapat memasuki fase pengembangan obat karena potensi in vivo yang terbatas serta ketidakefektifannya terhadap stadium kista. Pada beberapa kasus yang dilaporkan, biasanya diberikan terapi kombinasi. Obat yang tersedia adalah liposomal amfoterisin B dengan vorikonazol, trimetoprim sulfametoksazol dengan rifampisin, dan meropenem, linezolid, moksifloksasin, dan flukonazol.^{23,24}

Baru-baru ini beberapa obat yang sudah ada untuk penyakit lain di ujicobakan pada *Achantamoeba* seperti miltefosine, yang merupakan agen antikanker, polymyxin B, cefazolin, meropenem, moxifloxacin, amphotericin B, golongan azol yang memiliki komponen anti jamur. Pada beberapa studi obat-obatan ini dapat bekerja dengan baik pada *Achantamoeba*.²⁴

Sedangkan pada kasus keratitis *Achantamoeba* pemberian terapi konservatif menggunakan agen anti-mikroba seperti Polyhexamethylene biguanide (PHMB) dan klorheksidin telah dilaporkan menjadi obat yang paling efektif untuk pengobatan infeksi dan dalam kombinasi mereka telah dilaporkan efektif terhadap kista dan trofozoit. Perlu diingat bahwa kedua obat ini aktif melawan spektrum patogen yang luas dengan meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma. Transplantasi kornea (keratoplasti) adalah alternatif terapi apabila pengobatan topikal gagal. Intervensi ini direkomendasikan jika pada fase akut infeksi, kornea menjadi terlalu tipis atau telah rusak, dan penglihatan terbatas.

KESIMPULAN

Pemahaman mengenai mekanisme pathogenesis dari *Acanthamoeba* menunjukkan bahwa biologi sel molekuler dan biokimia dapat memberikan pengetahuan rinci tentang salah satu pathogen dari golongan *free living amoeba*. Parasit golongan ini termasuk dalam *neglected diseases* yang dapat

meningkatkan masalah medis. *Acanthamoeba* jelas merupakan patogen, tetapi berpotensi kurang terdiagnosis saat ini.

Peningkatan kesadaran dari para klinisi mengenai infeksi *Acanthamoeba* dikombinasikan dengan diagnosis dini penyakit menggunakan pemeriksaan molekuler merupakan salah satu cara untuk mendapatkan hasil pengobatan yang baik. Namun demikian, pengetahuan tentang pathogenesis dan karakteristik *Acanthamoeba* masih belum sepenuhnya diketahui dan sangat memerlukan studi lebih lanjut. Hal ini akan menjadi kunci untuk meningkatkan diagnosis dan pengembangan terapi yang efektif.

REFERENCES

1. Gomes TS, Vaccaro L, Magnet A, Izquierdo F, Ollero D, Martínez-Fernández C, et al. Presence and interaction of free-living amoebae and amoeba-resisting bacteria in water from drinking water treatment plants. *Sci Total Environ*. 2020;719:137080.
2. Trabelsi H, Dendana F, Sellami A, Sellami H, Cheikhrouhou F, Neji S, et al. Pathogenic free-living amoebae: Epidemiology and clinical review. *Pathol Biol*. 2012;60(6):399–405.
3. Cateau E, Delafont V, Hechard Y, Rodier MH. Free-living amoebae: What part do they play in healthcare-associated infections? *J Hosp Infect [Internet]*. 2014;87(3):131–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2014.05.001>
4. Visvesvara GS, Schuster FL. Opportunistic Free-Living Amebae, Part II. *Clin Microbiol Newsl*. 2008;30(21):159–66.
5. de Lacerda AG, Lira M. *Acanthamoeba* keratitis: a review of biology, pathophysiology and epidemiology. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2021;41(1):116–35.
6. Plutzer J, Karanis P. Neglected waterborne parasitic protozoa and their detection in water. *Water Res*. 2016;101:318–32.
7. Kalra SK, Sharma P, Shyam K, Tejan N, Ghoshal U. *Acanthamoeba* and its pathogenic role in granulomatous amebic encephalitis. *Exp Parasitol [Internet]*. 2020;208(July 2019):107788.
8. Niederkorn JY. The biology of *Acanthamoeba* keratitis. *Exp Eye Res* 2021;202:108365.
9. Corsaro D. Update on *Acanthamoeba* phylogeny. *Parasitol Res*. 2020;119(10):3327–38.
10. Bunsuwansakul C, Mahboob T, Hounkong K, Laohaprapanon S, Chitapornpan S, Jawjit S, et al. *Acanthamoeba* in southeast Asia – Overview and challenges. *Korean J Parasitol*. 2019;57(4):341–57.
11. Guimaraes AJ, Gomes KX, Cortines JR, Peralta JM, Peralta RHS. *Acanthamoeba* spp. as a universal host for pathogenic microorganisms: One bridge from environment to host virulence. *Microbiol Res*. 2016;193:30–8.
12. Megha K, Sehgal R, Khurana S. Genotyping of *Acanthamoeba* spp. isolated from patients with granulomatous amoebic encephalitis [Internet]. Vol. 148, *Indian Journal of Medical Research*. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2018;456–9.
13. Król-Turmińska K, Olender A. Human infections caused by free-living amoebae. *Ann Agric Environ Med*. 2017;24(2):254–60.
14. Baig AM, Khan NA. A proposed cascade of vascular events leading to granulomatous amoebic encephalitis. *Microb Pathog [Internet]*. 2015;88:48–51.
15. Siddiqui R, Emes R, Elsheikha H, Khan NA. Area 51: How do *Acanthamoeba* invade the central nervous system? *Trends Parasitol*. 2011;27(5):185–9.
16. Baig AM. Pathogenesis of amoebic encephalitis: Are the amoebas being credited to an “inside job” done by the host immune response? *Acta Trop*. 2015;148:72–6.
17. Sütçü M, Aktürk H, Gülümser-şişko S, Acar M, Erol OB, Somer A, et al. Granulomatous amebic encephalitis caused by *acanthamoeba* in an immunocompetent child. *Turk J Pediatr*. 2018;60(3):340–3.
18. Galarza C, Ramos W, Gutierrez EL, Ronceros G, Teran M, Uribe M, et al. Cutaneous *acanthamebiasis* infection in immunocompetent and immunocompromised patients. *Int J Dermatol*. 2009;48(12):1324–9.
19. da Rocha-Azevedo B, Tanowitz HB, Marciano-Cabral F. Diagnosis of Infections Caused by

- Pathogenic Free-Living Amoebae. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2009;2009:1–14.
20. Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba* keratitis: Diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*. 2015;22.
 21. Clarke DW, Niederkorn JY. The pathophysiology of *Acanthamoeba* keratitis. *Trends Parasitol*. 2006;22(4):175–80.
 22. Szentmáry N, Daas L, Shi L, Laurik KL, Lepper S, Milioti G, et al. *Acanthamoeba* keratitis – Clinical signs, differential diagnosis and treatment. *J Curr Ophthalmol*. 2019;31(1):16–23.
 23. Kalra SK, Sharma P, Shyam K, Tejan N, Ghoshal U. *Acanthamoeba* and its pathogenic role in granulomatous amebic encephalitis. *Exp Parasitol*. 2020;208:107788.
 24. Anwar A, Khan NA, Siddiqui R. Combating *Acanthamoeba* spp. cysts: What are the options? *Parasites and Vectors*. 2018;11(1):4–6.