

Aktiviti Anti-*Acanthamoeba* oleh Disinfektan Kanta Sentuh Pelbagai Guna terhadap Sista *Acanthamoeba* Pencilan Klinikal dan Persekitaran

(Anti-*Acanthamoeba* Activity of Multi-purpose Contact Lens Disinfecting Solutions against *Acanthamoeba* Cysts of Clinical and Environmental Isolates)

MOHAMED KAMEL ABD GHANI*, SYAMIMI OMAR, ANISAH NORDIN, YUSOF SUBOH, NORAINA AB RAHIM, WAN OMAR ABDULLAH & NORAZAH AHMAD

ABSTRAK

Disinfeksi kanta sentuh yang berkesan adalah sangat penting sebagai langkah pencegahan keratitis *Acanthamoeba* (AK). Oleh yang demikian, kajian ini dijalankan untuk menilai keberkesanan larutan disinfektan kanta sentuh pelbagai guna terhadap sista *Acanthamoeba* dengan menggunakan empat pencilan, dua pencilan klinikal; HS 5, HTH 73, dan dua lagi pencilan persekitaran; TTA 1 dan TKA 14. Lima jenis larutan disinfektan pelbagai guna; Complete®, Renu® fresh™, RevitaLens OcuTec®, Opti-Free® Express® dan Solo Care Aqua® telah diuji ke atas pencilan *Acanthamoeba* tersebut. Masa rendaman adalah berdasarkan masa yang disyorkan oleh pengeluar (4 jam dan 6 jam), 8 jam dan 24 jam. Setiap campuran sista dan larutan disinfektan kanta sentuh dipindahkan ke atas agar tanpa nutrien yang dilapisi *Escherichia coli*. Plat agar diperiksa di bawah mikroskop songsang setiap hari sehingga hari ke-14 untuk melihat kehadiran trofozoit. Kelima-lima larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh tidak efektif membunuh kesemua pencilan sista *Acanthamoeba* yang diuji. Ini menunjukkan bahawa kebanyakan larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh tidak mempunyai aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang sangat diperlukan bagi mencegah jangkitan keratitis *Acanthamoeba* dalam kalangan pengguna kanta sentuh.

Kata kunci: *Acanthamoeba*; keberkesanan; larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh; Malaysia

ABSTRACT

Effective disinfection of contact lenses is of paramount importance in the prevention of *Acanthamoeba* (AK). Therefore, this study was undertaken to evaluate the effectiveness of the multi-purpose contact lens disinfecting solutions against *Acanthamoeba* cysts of four isolates comprising two clinical isolates; HS 5, HTH 73, and two environmental isolates; TTA 1 and TKA 14. Five multi-purpose contact lens disinfecting solutions; Complete®, Renu® fresh™, RevitaLens OcuTec®, Opti-Free® Express® and Solo Care Aqua® were tested on cyst of the four *Acanthamoeba* isolates. The soaking times were based on manufactures recommendations (4 and 6 h), 8 h and 24 h. Each mixture of the cysts and disinfecting solution was transferred onto non-nutrient agar seeded with *Escherichia coli*. The agar plates were examined under inverted microscope daily until day 14 to detect the presence of *Acanthamoeba* trophozoites. All 5 multi-purpose contact lens disinfecting solutions tested were ineffective at killing all *Acanthamoeba* cyst isolates tested. This indicates that most multi-purpose contact lens disinfecting solutions do not have anti-*Acanthamoeba* activity necessary to prevent keratitis amongst the contact lens wearers.

Key words: *Acanthamoeba*; effectiveness; Malaysia; multi-purpose contact lens disinfecting solution

PENDAHULUAN

Acanthamoeba adalah ameba hidup bebas yang boleh menyebabkan pelbagai jenis penyakit, antaranya *Granulomatous Amoebic Encephalitis* (GAE), *acanthamoebiasis* kulit, infeksi sistem saraf pusat dan Keratitis *Acanthamoeba* (AK) (Johnston et al. 2009; Rocha-Azevedo et al. 2009). Infeksi keratitis oleh *Acanthamoeba* spp. dalam kalangan pengguna kanta sentuh dilaporkan semakin meningkat di seluruh dunia (Niszl & Markus 1998). Kecuaian dalam penjagaan, higen dan penyimpanan kanta sentuh merupakan faktor penyumbang kepada berlakunya infeksi keratitis *Acanthamoeba* pada mata.

Sista dan trofozoit *Acanthamoeba* aktif akan melekat pada kanta sentuh dan dipindahkan dari bekas penyimpanan kanta sentuh ke mata seterusnya menyebabkan jangkitan kornea (Hiti et al. 2002).

Kes pertama keratitis *Acanthamoeba* di Malaysia telah dikesan melibatkan pemakai kanta sentuh dan bilangan kes gejala keratitis *Acanthamoeba* didapati terus meningkat dari masa ke semasa (Kamel & Norazah 1995). Kajian mekanisme jangkitan keratitis dalam kalangan pengguna kanta sentuh telah dikaji dan didapati bahawa amalan penjagaan kebersihan kanta sentuh amat kritikal bagi pengguna (Kamel et al. 2000).

Dalam penggunaan kanta sentuh, penjagaan kebersihan dan penggunaan larutan disinfeksi yang berkesan terhadap *Acanthamoeba* adalah amat penting bagi mengelakkan jangkitan *Acanthamoeba*. Walaupun terdapat pelbagai jenis larutan disinfeksi pelbagai guna di pasaran dan sebahagiannya dikatakan efektif terhadap *Acanthamoeba*, namun hakikatnya secara klinikal tidak semua dapat dibuktikan efektif sebagai agen anti-*Acanthamoeba* (Hiti et al. 2002) khasnya terhadap peringkat sistanya. Dengan itu kajian ini dijalankan untuk menilai keberkesanan larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh terhadap sista *Acanthamoeba* pencilan tempatan.

BAHAN DAN KAEDAH

ACANTHAMOEBA SP.

Acanthamoeba sp. diterima daripada Makmal Acanthamoeba, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia. Kesemua empat pencilan ini termasuklah dua daripada pemencilan klinikal; HS 5 dan HTH 73 serta dua pemencilan persekitaran; TKA 14 dan TTA 1. *Acanthamoeba* yang telah disubkultur di atas agar bukan nutrien yang dilapisi *E. coli* matian haba dibiarkan selama beberapa hari supaya trofozoit *Acanthamoeba* bertukar menjadi sista.

LARUTAN PELBAGAI GUNA KANTA SENTUH

Larutan disinfektan kanta sentuh yang digunakan adalah Opti-Free® Express (Alcon, USA), Complete® Multi-Purpose Solution (AMO, USA), Renu® fresh™ Multi-Purpose Solution (Bausch & Lomb, USA), RevitaLens Ocutec® Multi-Purpose Disinfecting Solution (AMO, USA) dan Solo Care Aqua®. Kesemua larutan ini telah dibeli daripada farmasi dan telah dipastikan diguna sebelum tarikh luputnya.

KAEDAH PEMROSESAN SAMPEL

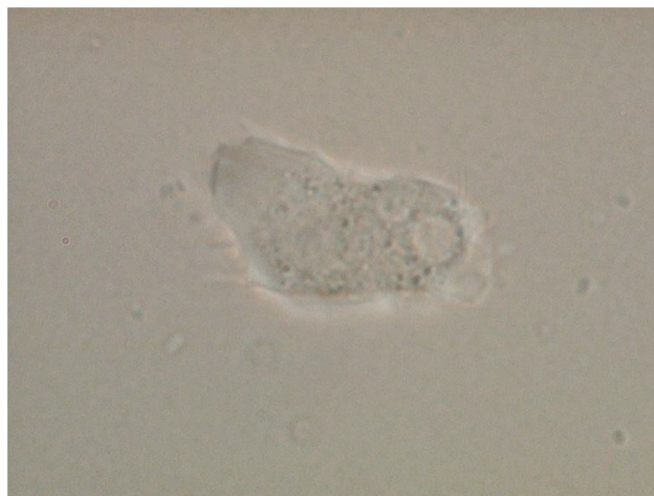
Ujian yang dijalankan adalah berdasarkan kaedah filtrasi-kultur Narasimhan et al. (2002). Ujian kerentanan

dilakukan di dalam tiub ependof 1.5 mL. Satu mL larutan disinfektan kanta sentuh dimasukkan ke dalam setiap tiub ependof. 10 µL suspensi sista 1×10^6 dipipetkan ke dalam tiub ependof yang mengandungi 1 mL larutan disinfektan kanta sentuh. Tiub ependof kemudian disusun dalam rak mikrotiub dan diletakkan ke dalam laci untuk memberikan kesan gelap seperti bekas penyimpanan kanta sentuh. Kawalan positif disediakan dengan suspensi sista dengan 3% hidrogen peroksida yang mana kepekatan ini dapat membunuh parasit. Kawalan positif lain pula mengandungi sista dalam salin ameba untuk memastikan bahawa sista *Acanthamoeba* yang digunakan dalam ujian ini viabel dan boleh muncul dalam bentuk trofozoit. Bagi kawalan negatif, larutan PAS dan larutan disinfektan kanta sentuh akan dibiarkan sendirian untuk memastikan tiada sebarang kontaminasi yang berlaku.

Selepas selang masa rendaman yang ditetapkan iaitu 4, 6, 8 dan 24 jam, 100 µL sampel dipipetkan ke atas piring agar tanpa nutrien yang dilapisi dengan *E. coli* matian haba. Piring petri kemudiannya diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari. Plat media dipantau untuk melihat kehadiran trofozoit *Acanthamoeba* di bawah mikroskop songsang selama 14 hari. Kehadiran trofozoit yang muncul daripada peringkat sista menunjukkan ketidakberkesanan disinfektan kanta sentuh yang digunakan dan keputusan ujian aktiviti anti-*Acanthamoeba* direkodkan sebagai keputusan negatif (Rajah 1). Kesemua ujian ini dilakukan secara duplikat dan tidak triplikat kerana kekangan kewangan.

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Kesemua larutan disinfektan kanta sentuh pelbagai guna dalam kajian ini tidak berkesan membunuh sista *Acanthamoeba* sp. Setelah sista didedahkan kepada larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh (Complete®, Renu® fresh™, RevitaLens OcuTec®, Opti-Free® Express® dan Solo Care Aqua®) dalam selang masa



RAJAH 1. Peringkat trofozoit *Acanthamoeba* yang muncul daripada peringkat sista

yang disyorkan oleh pengeluar; 4 jam dan 6 jam serta didedahkan sehingga; 8 jam dan 24 jam tiada sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang ditunjukkan terhadap keempat-empat pencilan (Jadual 1-5). Kawalan positif sista dan 3% hidrogen peroksida dapat membunuh kesemua sista manakala kawalan positif sista dalam salin ameba (PAS) menunjukkan bahawa sista *Acanthamoeba* yang digunakan dalam ujian ini menjadi trofozoit tanpa sebarang rencatan (Jadual 6). Kawalan negatif merupakan larutan PAS dan larutan disinfektan kanta sentuh yang dibiarkan tanpa sista dan ia menunjukkan tiada sebarang kontaminasi yang berlaku (Jadual 7 dan 8).

JADUAL 1. Keputusan kajian kerentanan *Acanthamoeba* sp. terhadap larutan kanta sentuh Complete®

Pencilan	4 Jam	6 Jam*	8 Jam	24 Jam
HS 5	-	-	-	-
HTH 73	-	-	-	-
TTA 1	-	-	-	-
TKA 14	-	-	-	-

JADUAL 2. Keputusan kajian kerentanan *Acanthamoeba* sp. terhadap larutan kanta sentuh Renu® fresh™

Pencilan	4 Jam	6 Jam*	8 Jam	24 Jam
HS 5	-	-	-	-
HTH 73	-	-	-	-
TTA 1	-	-	-	-
TKA 14	-	-	-	-

JADUAL 3. Keputusan kajian kerentanan *Acanthamoeba* sp. terhadap larutan kanta sentuh RevitaLens OcuTec®

Pencilan	4 Jam	6 Jam*	8 Jam	24 Jam
HS 5	-	-	-	-
HTH 73	-	-	-	-
TTA 1	-	-	-	-
TKA 14	-	-	-	-

JADUAL 4. Keputusan kajian kerentanan *Acanthamoeba* sp. terhadap larutan kanta sentuh Opti-Free® Express®

Pencilan	4 Jam	6 Jam*	8 Jam	24 Jam
HS 5	-	-	-	-
HTH 73	-	-	-	-
TTA 1	-	-	-	-
TKA 14	-	-	-	-

JADUAL 5. Keputusan kajian kerentanan *Acanthamoeba* sp. terhadap larutan kanta sentuh Solo Care Aqua®

Pencilan	4 Jam*	6 Jam	8 Jam	24 Jam
HS 5	-	-	-	-
HTH 73	-	-	-	-
TTA 1	-	-	-	-
TKA 14	-	-	-	-

Petunjuk:

- tiada sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang berlaku
- * masa rendaman yang disyorkan oleh pengeluar

JADUAL 6. Keputusan kawalan positif bagi ujian keberkesanan larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh

Pencilan	Suspensi sista	3% H ₂ O ₂
HS 5	+	-
HTH 73	+	-
TTA 1	+	-
TKA 14	+	-

Petunjuk:

- tiada sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang berlaku
- * masa rendaman yang disyorkan oleh pengeluar

JADUAL 7. Keputusan kawalan negatif bagi ujian keberkesanan larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh

Pencilan	Larutan PAS
HS 5	X
HTH 73	X
TTA 1	X
TKA 14	X

JADUAL 8. Keputusan kawalan negatif bagi larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh

Jenama	Pemerhatian
Complete™	X
Renu®fresh™	X
RevitaLens OcuTec®	X
Solo Care Aqua®	X
Optic-Free® Express®	X

Petunjuk:

- X Tiada kehadiran trofozoit dan sista *Acanthamoeba*
- + Kehadiran trofozoit dan sista *Acanthamoeba*
- Tiada kehadiran trofozoit *Acanthamoeba*
- H₂O₂ Hidrogen peroksida
- PAS *Page amebic saline*

Peningkatan kes keratitis *Acanthamoeba* secara global, termasuk Malaysia dalam kalangan pengguna kanta sentuh kian membimbangkan. Penggunaan larutan disinfektan kanta sentuh yang berkesan membunuh sista *Acanthamoeba* merupakan satu langkah pencegahan AK.

Penilaian kesan anti-*Acanthamoeba* larutan disinfektan kanta sentuh yang sedia ada di pasaran adalah penting dijalankan dan boleh memberi maklumat berguna kepada pengguna, para doktor serta pengeluar.

Larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh Complete tidak menunjukkan sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* walaupun setelah direndam selama 4 jam, 6 jam (disyorkan oleh pengeluar), 8 jam dan 24 jam. Kajian yang dijalankan oleh Niszl dan Markus (1998) menunjukkan bahawa larutan disinfektan pelbagai guna Complete® dengan 0.0001% PHMB tidak menunjukkan sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* pada kesemua strain *Acanthamoeba*. Masa rendaman bagi membunuh *Acanthamoeba* dengan menggunakan larutan disinfektan pelbagai guna ini adalah lebih daripada 8 jam dan sehingga pada hari ke-7 kehadiran *Acanthamoeba* masih dapat dikesan. Kepekatan 0.0001% adalah jauh lebih rendah daripada kepekatan PHMB yang digunakan sebagai agen terapeutik AK pada kepekatan 0.02%.

Dalam satu kajian lepas (Johnston et al. 2009), tiada perbezaan statistik yang signifikan pada aktiviti anti-*Acanthamoeba* larutan Bausch & Lomb ReNu MultiPlus terhadap *A. castellani*, *A. hatchetti* dan *A. polyphaga*. Bahan aktif dalam larutan disinfektan pelbagai guna kanta sentuh ini adalah polyaminopropyl biguanide (PAPB) sebanyak 0.0001%. Dalam kajian yang telah dijalankan oleh Niszl dan Markus (1998), didapati bahawa PAPB 0.0005% tidak berkesan untuk menunjukkan sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba*. Dalam penyelidikan yang dijalankan ini juga didapati bahawa larutan disinfektan pelbagai guna Renu® fresh™ gagal membunuh kesemua strain sista *Acanthamoeba* dalam semua selang masa ujian.

Larutan disinfektan pelbagai guna RevitaLens OcuTec® telah menunjukkan aktiviti anti-mikrob yang baik terhadap *A. castellani* apabila telah berjaya mengurangkan kehadiran trofozoit sebanyak Log_{10} 2.6 dan mengurangkan sista sebanyak Log_{10} 0.1 setelah pendedahan selama 6 jam (Kilvington et al. 2010). Namun, dalam kajian ini tiada sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang dikesan dalam semua empat pencilan setelah didedahkan selama 4 jam, 6 jam (masa disyorkan oleh pengeluar), 8 jam dan 24 jam. Dalam kajian yang dijalankan oleh Codling et al. (2003), didapati bahawa PQ-1 telah menunjukkan aktiviti anti-bakteria yang sangat tinggi berbanding sebagai anti-amoeba terhadap *A. castellanii*.

Dalam kajian ini, sista *Acanthamoeba* telah didedahkan kepada larutan disinfektan pelbagai guna Opti-Free® Express® selama 4 jam, 6 jam (masa yang disyorkan oleh pengeluar), 8 jam dan 24 jam. Namun, tiada sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* yang direkodkan. Satu kajian telah dijalankan dengan menggunakan 11 jenis larutan disinfektan pelbagai guna untuk melihat kesan penyahaktifan sista *Acanthamoeba* oleh larutan-larutan tersebut. Keputusan yang didapati adalah larutan disinfektan pelbagai guna Opti-Free® Express® tidak signifikan dalam menunjukkan kesan penyahaktifan sista *Acanthamoeba* (Johnston et al. 2009).

Solo Care Aqua® dalam kajian ini telah gagal menunjukkan sebarang aktiviti anti-*Acanthamoeba* walaupun setelah didedahkan selama 4 jam (masa yang disyorkan pengeluar), 6 jam, 8 jam dan 24 jam. Bahan aktif dalam larutan disinfektan pelbagai guna Solo Care Aqua® adalah polyhexanide 0.0001%. Polyhexanide dikenali sebagai agen antimikrob tetapi tidak berkesan untuk membunuh *Acanthamoeba* dengan kepekatan yang sedia ada dalam larutan pelbagai guna yang dijual di pasaran. Tetapi, polyhexanide dipercayai dapat membunuh *Acanthamoeba* dalam keadaan kekekatannya yang tinggi (Radford et al. 1999).

KESIMPULAN

Berdasarkan kajian ini, didapati bahawa larutan disinfektan kanta sentuh pelbagai guna yang diuji adalah tidak berkesan sebagai agen anti-*Acanthamoeba*. Ini memberi gambaran bahawa penggunaannya dalam kalangan pengguna kanta sentuh mungkin tidak dapat memberi perlindungan terhadap jangkitan keratitis *Acanthamoeba*. Pencarian larutan disinfektan kanta sentuh yang memberikan kesan anti-*Acanthamoeba* adalah penting diteruskan dalam usaha mencegah keratitis *Acanthamoeba* dalam kalangan pengguna kanta sentuh.

RUJUKAN

- Codling, C.E., Maillard, J.Y. & Russell, A.D. 2003. Aspects of the antimicrobial mechanisms of action of a polyquaternium and an amidoamine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53: 1153-1158.
- Hiti, K., Walochnik, J., Haller Schober, E.M., Faschinger, C. & Aspöck, H. 2002. Viability of *Acanthamoeba* after exposure to a multipurpose disinfecting contact lens solution and two hydrogen peroxide systems. *Br. J. Ophthalmol.* 86: 144-146.
- Johnston, S.P., Sriram, R., Qvarnstrom, Y., Roy, S., Verani, J., Yoder, J., Lorick, S., Roberts, J., Beach, M.J. & Visvesvara, G. 2009. Resistance of *Acanthamoeba* cysts to disinfection in multiple contact lens solutions. *Journal of Clinical Microbiology* 47(7): 2040-2045.
- Kamel, A.G.M., Faridah, H., Norazah, A. & Noorain, A. 2000. A case of waterborne contact lens associated *Acanthamoeba* keratitis from Malaysia: Successful treatment with chlorhexidine and propamidine. *International Medical Journal* 7(1): 63-65.
- Kamel, A.G.M. & Norazah, A. 1995. First case of *Acanthamoeba* keratitis in Malaysia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene* 89: 652.
- Kilvington, S., Nikolic, M., Lam, A., Brady, N., Lonnen, J. & Heaselgrave, W. 2010. Comparative antimicrobial efficacy of contact lens care solutions. *Journal of Optometry* 3(3): 134-42.
- Narasimhan, S., Madhavan, H.N. & 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.
- Niszl, I.A. & Markus, M.B. 1998. Anti-*Acanthamoeba* activity of contact lens solutions. *British Journal of Ophthalmology* 82(9): 1033-1038.

Radford, C.F., Moodaley, L.C.M. & Porter, R. 1999. *Acanthamoeba* keratitis in compliant users of a one-step hydrogen peroxide contact lens disinfection system. *Optometry Today*. pp. 21-24.

Rocha Azevedo, B.D., Tanowitz, H.B. & Marciano Cabral, F. 2009. Diagnosis of infections caused by pathogenic free-living amoebae. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2009: Article ID 251406.

Mohamed Kamel Abd Ghani & Syamimi Omar
Program Sains Bioperubatan
Fakulti Sains Kesihatan
Universiti Kebangsaan Malaysia
Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur
Malaysia

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

Wan Omar Abdullah
Jabatan Mikrobiologi dan Parasitologi Perubatan
Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan
Universiti Putra Malaysia
43400 Serdang, Selangor Darul Ehsan
Malaysia

Norazah Ahmad
Unit Bakteriologi
Institut Penyelidikan Perubatan
Jalan Pahang
50588 Kuala Lumpur
Malaysia

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: mohamedkamela@yahoo.com

Diserahkan: 21 Ogos 2014
Diterima: 26 Oktober 2015