

**Keberkesanan Antibiotik titisan mata Chloramphenicol terhadap Sista
Acanthamoeba spp. Isolat Klinikal**
(Effectiveness of Chloramphenicol Eye drops on Clinical Isolates Cysts 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 penjagaan higen. Kajian ini bertujuan untuk mengkaji keberkesanan antibiotik titisan mata Chloramphenicol 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. Mikropencairan terhadap antibiotik 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. Chloramphenicol didapati tidak mempunyai kesan anti-*Acanthamoeba* dan gagal menginaktivasikan kesemua sista isolat klinikal *Acanthamoeba* dan dengan itu tidak sesuai digunakan untuk rawatan keratitis *Acanthamoeba*.

Kata kunci : Antibiotik titisan mata; Chloramphenicol; *Acanthamoeba*

ABSTRACT

Acanthamoeba spp. may infect healthy individual and cause keratitis especially amongst the contact lens wearers who do not practice good hygienic care. This study aims to evaluate the effectiveness of Chloramphenicol 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 antibiotic 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. Chloramphenicol does not exhibit anti-*Acanthamoeba* activity and failed to inactivate all the clinical isolate cysts and therefore is not suitable to be used for the treatment of *Acanthamoeba* keratitis.

Keywords : Topical antibiotic eyedrop; Chloramphenicol; *Acanthamoeba*

PENDAHULUAN

Acanthamoeba adalah patogen oportunist yang boleh menyebabkan penyakit keratitis *Acanthamoeba* (AK), Ensefalitis Amebik bergranuloma (GAE) serta lesi kutaneus pada manusia. (Khan 2006; Visvesvara et al. 2007). Keratitis *Acanthamoeba* (AK) biasanya adalah berkaitan dengan pemakaian kanta sentuh (Gagnon & Walter 2006) dan ini dianggap sebagai faktor risiko paling penting terhadap berlakunya jangkitan 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 AK dilaporkan pada tahun 1995 (Kamel & Norazah, 1995), bilangan kes terus meningkat sejajar dengan peningkatan penggunaan kanta sentuh (Kamel et al. 2005; Mohamed Kamel et al. 2018). Beberapa antibiotik titisan mata yang terdapat di pasaran seperti Gentamycin dan Neomycin telah pernah digunakan dalam rawatan keratitis *Acanthamoeba* (Kamel et al. 2004, Mohamed Kamel et al. 2000). Chloramphenicol juga merupakan antibiotik titisan mata yang mudah didapati di pasaran tempatan. Oleh yang demikian, kajian ini dijalankan untuk menguji keberkesanan antibiotik titisan mata Chloramphenicol terhadap isolat *Acanthamoeba* tempatan.

BAHAN DAN KAEDAH

Isolat *Acanthamoeba* yang digunakan dalam kajian ini berasal daripada kes AK dan terdiri daripada HKL 5, HKL 11, HKL 32, dan HKL 51. Antibiotik titisan mata Chloramphenicol digunakan dalam kajian ini. Kaedah penentuan nilai sistisidal minimum (MCC) yang dilakukan 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 antibiotik. Sista akan dimasukkan ke dalam semua telaga kecuali telaga untuk kawalan negatif. Terdapat dua kawalan positif dan dua kawalan negatif. Kawalan positif yang pertama adalah terdiri daripada larutan PAS dan sista, manakala yang kedua adalah terdiri daripada sista dan larutan 3% hidrogen peroksida (H₂O₂). Kawalan negatif pertama hanya mengandungi larutan PAS dan kawalan negatif kedua pula hanya mengandungi larutan agen antimikrob. Campuran akan dibiarkan selama 24 jam (Kilvington et al. 2002).

Selepas 24 jam eramannya di dalam inkubator bersuhu 30°C, campuran di setiap telaga akan dipipet masuk ke dalam vial 1.5 ml yang berlainan. Telaga mikrotiter kemudiannya akan dibilas dengan 100 µl larutan salin PAGE untuk memastikan tiada sista yang tertinggal dalam telaga mikrotiter dan juga bertujuan menyingkirkan agen antimikrob yang terdapat di

sekeliling sista. Cucian itu dilakukan sebanyak tiga kali. Campuran kemudian diemparkan pada halaju 740 xg selama 5 minit untuk mendapatkan mendapan sista. Supernatan di bahagian atas vial akan dibuang dan mendapan dibawahnya akan dipindahkan terus ke atas agar bukan nutrien (NNA) yang telah dititiskan dengan suspensi *Escherichia coli* matian haba pada hari sebelumnya. Selepas itu, semua piring petri ditutup dan dieramkan pada suhu 30°C selama 48 jam. Agar diperhatikan setiap hari selama 14 hari dibawah mikroskop *inverted* untuk mengesan kehadiran sista dan trofozoit *Acanthamoeba*. Jika tiada pertumbuhan trofozoit *Acanthamoeba* berlaku dalam masa 14 hari, maka agen antibiotik yang digunakan adalah berkesan dalam membunuh sista *Acanthamoeba*.

Apabila kajian keberkesanan antibiotik terhadap sista *Acanthamoeba* dibuktikan dapat membunuh sista *Acanthamoeba*, kajian kepekatan sistisidal minimum (MCC) dilakukan terhadap antibiotik tersebut dengan kaedah yang sama tetapi dengan kepekatan yang berbeza dengan kajian keberkesanan.

HASIL

Chloramphenicol didapati tidak mempunyai kesan anti-*Acanthamoeba* dan gagal membunuh semua sista isolat klinikal *Acanthamoeba* (Jadual 1). Kesemua sista dapat bereksistensi menjadi peringkat trofozoit. Kesemua kawalan positif dan negatif berfungsi dengan baik serta memberikan keputusan yang dijangkakan.

JADUAL 1. Keberkesanan Chloramphenicol terhadap sista *Acanthamoeba* spp. isolat klinikal.

Isolat	Chloramphenicol (5000 µg/ml)
HKL 5	X
HKL 11	X
HKL 32	X
HKL 51	X

Petunjuk:

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

PERBINCANGAN

Chloramphenicol sebagai sediaan dalam bentuk titisan mata yang digunakan dalam kajian

mengandungi 5mg/ml chloramphenicol dan pengawetnya adalah fenilmerkuri nitrat 2mg/ml. Chloramphenicol merupakan antibiotik yang sering digunakan untuk merencat tindakan

bakteria gram negatif dan positif, *Rickettsia*, *Chlamydia* dan *Mycoplasma*. Ia adalah agen bakteriostatik, walaupun begitu, dalam keadaan tertentu ia boleh menjadi agen bakterisidal terhadap sesetengah spesies. Hasil kajian menunjukkan bahawa antibiotik titisan mata Chloramphenicol adalah tidak berkesan terhadap kesemua sista *Acanthamoeba* isolat klinikal. Chloramphenicol sememangnya bersifat bakteriostatik sahaja terhadap bakteria dan bukan merupakan agen anti-ameba apatah lagi bila diuji terhadap sista *Acanthamoeba* yang resisten. Mod tindakannya adalah dengan mengikat pada ribosom 50S dan merencat aktiviti *peptidyl transferase* pada bakteria. Maka, perkembangan rantai polipeptida semasa sintesis protein dapat dihalang.

Beberapa jenis antibiotik titisan mata seperti gentamicin dan neomycin pernah digunakan dalam rawatan keratitis *Acanthamoeba* di dalam mahupun di luar negara (Kamel et al. 2004, Mohamed Kamel et al. 2000). Hasil kajian ini turut disokong oleh kajian terdahulu Noradilah et al. 2009 dan 2012. Biasanya apabila antibiotik digunakan dalam rawatan AK, ia melibatkan kombinasi dengan agen antimikrob yang lain seperti propamidine, PHMB atau chlorhexidine.

Antibiotik titisan mata Ciprofloxacin 3mg/ml juga pernah diuji keberkesanannya terhadap sista *Acanthamoeba* pencilan klinikal di Malaysia (Mohamed Kamel et al. 2019) dan ia didapati berkesan dan berpotensi digunakan sebagai rawatan sampingan untuk AK.

KESIMPULAN

Chloramphenicol tidak menunjukkan keberkesanannya terhadap sista *Acanthamoeba* isolat klinikal dengan itu ia tidak sesuai digunakan untuk rawatan keratitis *Acanthamoeba*.

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, AGM, Faridah H, Yusof S, Norazah A & Nakisah MA. 2004. A Case of trauma related *Acanthamoeba* keratitis. Tropical Biomedicine 21;2: 135-138.
- 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.
- Khan, N. A. 2006. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews. 30: 564–595.
- Kilvington, S., Hughes, R., Byas, J. & Dart, J. 2002. Activities of therapeutic agents and myristamidopropyl dimethylamine against *Acanthamoeba* isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 46(6):2007-2009.
- Mohamed Kamel, Faridah Hanum, Norazah A, Noor Rain A, Hay J and Seal D. 2000. A case of waterborne contact lens associated *Acanthamoeba* keratitis from Malaysia: Successful treatment with Chlorhexidine and Propamidine. International Medical Journal 7: 63-65.
- Mohamed Kamel AG, Irdawati Azhar, Haliza AM, Anisah N, Yusof S, Noraina AR & Norazah A. 2018. *Acanthamoeba* Keratitis in Malaysia. Sains Malaysiana 47(7):1563–1569.
- Mohamed Kamel AG, Tang PY, Anisah N, Yusof S, Noraina AR & Norazah A. 2019. The Effectiveness of Ciprofloxacin, Fluconazole and Amphotericin B against Clinical Isolates of *Acanthamoeba* Cysts. International Medical Journal 26:2:106 – 108.
- 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.
- Noradilah S.A., Mohamed Kamel A. G., Anisah N., Yusof S. & Noraina A. R. 2009. Keberkesanan antibiotik titisan mata Neomycin, Gentamycin dan Ciprofloxacin terhadap sista *Acanthamoeba* spp. Malaysian Journal of Health Sciences 7(2) 2009:39-46.

Noradilah SA, Mohamed Kamel AG, Anisah N, Noraina AR & Yusof S. 2012. The effectiveness of Gentamicin against *Acanthamoeba* cysts in-vitro. 2012. Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences 8(2): 51–54.

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

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

ANISAH NORDIN

YUSOF SUBOH

NORAINA ABD RAHIM

Jabatan Parasitologi, Fakulti Perubatan,
Universiti Kebangsaan Malaysia

NORAZAH AHMAD

Institut Penyelidikan Perubatan,
Jalan Pahang, Kuala Lumpur

*Corresponding author: profkamel@ukm.edu.my , mohamedkamela@yahoo.com