

Pemencilan *Acanthamoeba* sp. daripada Swab Kulit individu Normal (Isolation of *Acanthamoeba* sp. from Skin Swabs of Normal Individual)

MOHAMED KAMEL ABD. GHANI*, ANDRY DAUNI, ANISAH NORDIN, YUSOF
SUBOH, NORAINA ABDUL RAHIM & NORAZAH AHMAD

ABSTRAK

Ameba hidup bebas dari genus *Acanthamoeba* sp. adalah organisma yang tersebar luas di persekitaran semulajadi dan boleh menyebabkan jangkitan pada otak, mata dan kulit manusia. Kajian ini dijalankan untuk memencilkan *Acanthamoeba* sp. daripada kulit, individu normal. Seramai 71 orang telah mengambil bahagian sebagai subjek kajian yang terdiri daripada kanak-kanak Tadika Bijak, pelajar sekolah rendah dan sekolah menengah Tanjung Karang, pelajar UKM Kampus Kuala Lumpur, kakitangan pembersihan KTSN, pekerja kuari dan kakitangan yang berkhidmat dengan kerajaan. Pengambilan swab kulit dilakukan pada setiap subjek. Kesemua sampel dikulturkan mengikut tatacara piawai dan diinokulasikan ke atas plat agar bukan nutrien yang telah dititiskan dengan *Escherichia coli* matian haba. Plat agar kemudian dieram pada suhu 30°C dan diperiksa setiap hari selama 14 hari di bawah mikroskop kebalikan untuk mengesan sebarang kehadiran trofozoit atau sista *Acanthamoeba* sp. Hasil kajian ini mendapati *Acanthamoeba* sp. berjaya dipencilkan daripada kulit individu normal dengan peratusan sebanyak 8.5%. Hasil positif diperolehi daripada pelajar UKM Kampus Kuala Lumpur dan kakitangan pembersihan KTSN. Keputusan ini membuktikan kehadiran *Acanthamoeba* sp. pada kulit individu normal. Kumpulan *Acanthamoeba* yang dipencil terdiri daripada kumpulan polyphagids dan culbertsonids. Golongan yang berisiko tinggi untuk memberikan hasil positif juga dikenalpasti iaitu mereka yang mempunyai sejarah terdedah kepada persekitaran berdebu dan bersentuhan dengan tanah.

Kata kunci : Pemencilan; *Acanthamoeba*; Swab kulit; Malaysia

ABSTRACT

Free living amoeba from the genus *Acanthamoeba* sp. is widely distributed in the natural environment and can cause infection of the human brain, eye and skin. This study was carried out to isolate *Acanthamoeba* sp. from the skin of normal individual. A total of 71 persons had been recruited as subjects comprising children from Tadika Bijak, students from primary and secondary school around Tanjung Karang, students of the UKM Kuala Lumpur Campus, KTSN's cleaners, quarry workers and government staffs. Skin swabs were collected from all subjects. All samples were cultured using standard method and inoculated on non-nutrient agar plates overlaid with *Escherichia coli*. The plates were incubated at 30°C and examined daily using inverted microscope for 14 days for the presence of trophozoites or cysts of *Acanthamoeba* sp. The result of this study established that *Acanthamoeba* spp. were successfully isolated from the skin of normal individual at a percentage of 8.5%. Positive results came from students of UKM Kuala Lumpur Campus and KTSN's cleaners. These results proved the presence of *Acanthamoeba* sp. from the skin of normal individual. The *Acanthamoeba* isolated belongs to the polyphagids and culbertsonids groups. The group of individuals at risk of harbouring *Acanthamoeba* had also been identified as those who had a history of exposure to dusty environment and contact with soil.

Key words: Isolation; *Acanthamoeba*; Skin swab; Malaysia.

PENGENALAN

Acanthamoeba adalah ameba hidup bebas yang tersebar luas dalam persekitaran semula jadi (Martinez & Visvesvara 1997). Ia tersebar luas di seluruh dunia dan pernah dipencilkan daripada tanah, debu, udara, air semula jadi dan yang dirawat, air laut, kolam renang, air kumbahan, sedimen, unit pendingin udara, air paip domestik, unit rawatan gigi, unit dialisis dan hospital, bekas pencuci mata dan peralatan kanta sentuh. *Acanthamoeba* adalah agen penyebab kepada

meningoensefalitis ameba bergranuloma (GAE), sejenis penyakit pada sistem saraf pusat (SSP) yang boleh membawa kematian dan keratitis ameba (AK), sejenis penyakit mata yang boleh mengancam penglihatan seseorang (Jones et al. 1975). Kajian mendapati *Acanthamoeba* sp. juga berkait rapat dengan lesi kutaneus dan sinusitis pada pesakit AIDS dan individu lain yang terimunokompromi (Dunand et al. 1997; Friedland et al. 1992; Gullet et al. 1979).

Di Malaysia, pemencilan *Acanthamoeba* sp. daripada peralatan kanta sentuh, tanah, udara,

persekitaran akuatik, air laut dan air paip telah berjaya dilakukan oleh penyelidik tempatan (Mohamed Kamel et al. 2013; Mohamad Kamel et al. 2018a, 2018b, 2018c; 2017). Kajian-kajian sebelum ini yang dilakukan oleh samada penyelidik tempatan atau luar negara telah membuktikan bahawa *Acanthamoeba* sp. boleh dipencilkan daripada pelbagai persekitaran termasuk pada manusia. *Acanthamoeba* pernah dipencilkan daripada udara dan daripada epitelium nasal individu normal (Schuster & Visvesvara 2004; Mohamed Kamel et al. 2018b) khususnya pada musim berangin. Sista *Acanthamoeba* mudah tersebar melalui udara dan boleh sampai ke permukaan epitelium nasal (Lemgruber et al. 2010). Daripada kaviti nasal, ia boleh sampai ke sistem saraf pusat melalui saluran respiratori dan peredaran darah (Khan 2007, Siddiqui & Khan 2012).

Kes pertama keratitis *Acanthamoeba* sp. di Malaysia yang melibatkan seorang wanita pada tahun 1995 menunjukkan bahawa negara ini tidak terlepas daripada ancaman parasit ini (Mohamed Kamel & Norazah 1995). Bermula dengan kes tersebut, maka pelbagai kajian untuk mempelajari sebaran ameba ini di persekitaran negara telah dijalankan. Namun demikian, pemencilan ameba hidup bebas ini daripada kulit individu normal masih jarang dilakukan. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk mengkaji kekerapan atau peratus kehadiran *Acanthamoeba* sp. pada kulit individu normal sekaligus membuktikan sejauh mana pendedahan manusia ke atas organisma ini.

BAHAN DAN KAEDAH

Swab kulit diambil daripada setiap peserta yang merupakan individu normal yang menjadi subjek kajian. Subjek dipilih secara rawak daripada kumpulan umur dan tempat yang berlainan di sekitar Selangor dan Wilayah Persekutuan. Jumlah keseluruhan subjek yang dipilih adalah seramai 71 orang. Untuk kumpulan subjek yang pertama seramai 10 orang telah diambil daripada kanak-kanak Tadika Bijak, Jalan Semarak, iaitu mereka yang berumur di antara 4 hingga 7 tahun. Kumpulan subjek seterusnya diambil daripada pelajar sekolah rendah dan sekolah menengah Tanjung Karang yang berumur di antara 7 hingga 19 tahun. Jumlah subjek kumpulan ini adalah seramai 14 orang. Sementara untuk kumpulan pelajar Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), seramai 24 orang subjek telah dipilih dari lingkungan umur 19 hingga 29 tahun. Pelajar

UKM yang diambil termasuk pelajar yang tinggal di Kolej Tun Syed Nasir (KTSN) 1 dan 2 serta mereka yang tinggal di luar kolej. Seramai 10 orang subjek yang berumur daripada 22 hingga 33 tahun diambil daripada kakitangan pembersihan KTSN. Selain itu, kumpulan subjek seramai 8 orang yang berumur daripada 19 hingga 44 tahun diambil daripada pekerja Kuari Daerah Kepong. Kumpulan subjek terakhir iaitu seramai 5 orang diambil daripada mereka yang berkhidmat dengan kerajaan iaitu dalam lingkungan 24 hingga 60 tahun. Pengambilan subjek adalah seimbang dari aspek jantina.

Sampel diambil dengan melakukan swab kulit pada tangan dengan menggunakan swab yang steril. Sampel yang diperolehi dimasukkan ke dalam botol universal yang mengandungi 10 ml larutan salin Page sebagai media pengangkut. Sampel swab yang telah dimasukkan ke dalam botol universal yang mengandungi larutan salin Page akan di vorteks selama tiga minit untuk memastikan kesemua organisma termasuk *Acanthamoeba* sp. tertanggal daripada swab dan permukaan dinding botol universal. Sampel yang telah di vorteks kemudian dituras melalui membran turas bersaiz liang 0.45 μm menggunakan pam vakum.

Setelah proses penurasan selesai, membran turas yang mengandungi sedimen sampel akan dipindahkan secara terbalik ke atas permukaan agar bukan nutrien yang telah dititiskan dengan suspensi *E. coli* matian haba. Seterusnya, plat dieram pada suhu 30°C dan selepas 3 hari pengeraman, sampel diperiksa untuk kehadiran trofozoit atau sista *Acanthamoeba* di bawah mikroskop kebalikan selama 14 hari sebelum disahkan negatif.

Bagi pengesanan kumpulan *Acanthamoeba*, kriteria Page (1967) digunakan semasa mengamati peringkat sista dengan menggunakan program Image Analysis Software Video-Test 4.0. Saiz dan morfologi dinding sista iaitu endosista dan ektosistanya dapat memberi gambaran mengenai kumpulan *Acanthamoeba* samada kumpulan I (astronyxids), kumpulan II (polyphagids) atau kumpulan III (culbertsonids).

HASIL KAJIAN

Pemencilan daripada swab kulit, menunjukkan 6 daripada 71 (8.5%) sampel adalah positif dengan kehadiran *Acanthamoeba* sp. (Jadual 1). Tiga orang subjek yang positif terhadap *Acanthamoeba* adalah pelajar UKM Kampus Kuala Lumpur manakala 3 lagi adalah

kakitangan pembersihan KTSN (Jadual 2). ditunjukkan di dalam Jadual 3 dan dua kumpulan Pengenalpastian *Acanthamoeba* sp. daripada yang dikenalpasti ialah kumpulan polyphagids sampel swab yang positif mengikut kumpulan dan culbertsonids.

JADUAL 1. Peratus keseluruhan sampel swab kulit yang positif *Acanthamoeba* sp.

Jenis sampel	Bilangan sampel yang positif / jumlah keseluruhan sampel	Peratus sampel yang positif <i>Acanthamoeba</i> sp. (%)
Swab Kulit	6 / 71	8.5

JADUAL 2. Pemencilan *Acanthamoeba* sp. mengikut kumpulan subjek.

Kumpulan subjek	Bilangan sampel positif <i>Acanthamoeba</i> sp. / jumlah keseluruhan Sampel yang diuji	(%)
1. Kanak-kanak Tadika Bijak	0 / 10	0
2. Sekolah rendah dan sekolah menengah Tanjung Karang	0 / 14	0
3. Pelajar UKM kampus Kuala Lumpur	3 / 24	12.5
4. Kakitangan pembersihan KTSN	3 / 10	30
5. Pekerja Kuari	0 / 8	0
6. Kakitangan kerajaan	0 / 5	0

JADUAL 3. Pengenalpastian jenis kumpulan *Acanthamoeba* sp. yang dipencil.

Jenis sampel	No. Subjek	Kumpulan
Pelajar UKM kampus Kuala Lumpur	26	<i>culbertsonids</i>
	27	<i>polyphagids</i> dan <i>culbertsonids</i>
	32	<i>polyphagids</i>
Kakitangan pembersihan KTSN	36	<i>culbertsonids</i>
	39	<i>polyphagids</i> dan <i>culbertsonids</i>
	40	<i>culbertsonids</i>

PERBINCANGAN

Seperti mikroorganisma yang lain, *Acanthamoeba* sp. tersebar luas di persekitaran, di seluruh dunia. Sumber atau habitat semulajadi

yang biasa didiami oleh ameba hidup bebas ini adalah tanah dan kawasan perairan. Menurut kajian-kajian yang lepas, penyebarannya dipengaruhi oleh beberapa faktor. Warhurst (1985) dan Mazur et al. (1995) mendapati sifat

keresistanan yang ada pada sista *Acanthamoeba* sp. adalah faktor utama dalam kebolelsebarannya secara meluas dan mampu hidup sehingga mencapai satu jangka masa yang panjang tanpa kehadiran sebarang makanan. Dengan pemencilan daripada pelbagai jenis persekitaran, tempat-tempat atau sumber-sumber yang berisiko untuk mendatangkan infeksi *Acanthamoeba* sp. telah dapat ditentukan. Pada manusia sendiri, *Acanthamoeba* sp. pernah diisolasi daripada nasal (Lawande et al. 1979; Mohamed Kamel et al. 2018), kulit (Marshall 1997), tekak (Wang & Feldman 1967) dan tulang (Borochovitz et al. 1981).

Di Malaysia yang turut tidak terlepas daripada ancaman ameba hidup bebas ini, penyelidikan telah dimulakan khususnya kajian dari segi pemencilan. Antara pemencilan *Acanthamoeba* sp. yang pernah dilakukan terhadap manusia termasuklah pemencilan daripada kornea bagi pesakit keratitis (Mohamed Kamel & Norazah 1995); swab mata individu normal (Anisah et al. 2005; Mohamed Kamel et al. 2013) dan swab nasal individu normal (Mohamed Kamel et al. 2018). Dalam kajian ini, *Acanthamoeba* spp. telah berjaya dipencilkan daripada 8.5% (6/71) sampel swab kulit individu normal. Sekaligus ini membuktikan kajian yang dilakukan oleh para penyelidik luar negara sebelum ini. Daripada kumpulan subjek yang dipilih secara rawak, pelajar UKM Kampus Kuala Lumpur dan pekerja pembersihan KTSN menunjukkan hasil keputusan yang positif.

Keenam-enam subjek yang menunjukkan hasil positif bagi swab kulit mempunyai sejarah atau faktor risiko terdedah kepada persekitaran luar yang berdebu dan terlibat dalam aktiviti yang bersentuhan dengan tanah. *Acanthamoeba* sp. ini kemungkinan diperolehi melalui salah satu atau kedua-dua sumber faktor risiko tersebut.

Kajian pemencilan ini hanya mengenalpasti *Acanthamoeba* sp. di peringkat kumpulan sahaja. Dua kumpulan iaitu kumpulan II (polyphagids) dan kumpulan III (culbertsonids) berjaya dipencilkan berdasarkan pemerhatian morfologi endosista dan ektoista. Kedua-dua kumpulan ini merupakan kumpulan *Acanthamoeba* yang utama di persekitaran, khasnya kumpulan polyphagids. Kumpulan polyphagids juga terkenal sebagai kumpulan yang mempunyai patogenisiti yang tinggi. Kolonisasi *Acanthamoeba* pada kulit berkait

rapat dengan kebolehnya menyebabkan jangkitan kutaneus.

Walaupun peratus pemencilan *Acanthamoeba* pada kulit individu normal agak rendah dalam kajian ini, ia telah membuktikan *Acanthamoeba* sp. boleh dipencilkan daripada tubuh manusia walaupun bukan sebagai flora normal.

RUJUKAN

- Anisah N, Amal H, Kamel AG, Yusof S, Noraina AR, Norhayati M. 2005. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from conjunctival sac of healthy individuals using swab. Tropical Biomedicine 22:1;11-14.
- Borochovitz, D., Martinez, A.J. & Patterson, G.T. 1981. Osteomyelitis of a bone graft of the mandible with *Acanthamoeba castellanii* infection. Human Pathology 12: 573-576.
- Dunand, V.A., Hammer, S.M., Rossi, R., Poulin, M., Albrecht, M.A., Doweiko, J.P., DeGirolami, P.C., Coakley, E., Piessens, E. & Wanke, C.A. 1997. Parasitic sinusitis and otitis in patients infected with human immunodeficiency virus: report of five cases and review. Clinical of Infectious Diseases 25: 267-272.
- Friedland, L.R., Raphael, S.A., Deutsch, E.S., Johal, J., Martyn, L.J., Visvesvara, G.S. & Lischner, H.W. 1992. Disseminated *Acanthamoeba* infection in a child with symptomatic human immunodeficiency virus infection. Journal of Pediatric Infectious Diseases 11:404-407.
- Gullett, J., Mills, J., Hadley, K., Podemski, B., Pitts, L. & Gelber, R. 1979. Disseminated granulomatous *Acanthamoeba* infection presenting as an unusual skin lesion. American Journal of Medicine 67: 891-896.
- Jones, B.R., Visvesvara, G.S. & Robinson, N.M. 1975. *Acanthamoeba polyphaga* keratitis and *Acanthamoeba* uveitis associated with fatal meningoencephalitis. Trans. Ophthalmology Society U.K. 95: 221-232.
- Khan NA. 2007. *Acanthamoeba* invasion of the central nervous system. Int J Parasitol 37: 131-138.
- Lawande, R.V., Abraham, S.N., John I. & Egler L.J. 1979. Recovery of soil amoebas from the nasal passages of children during the dusty hartmann period in Zaria. American Journal of Clinical Pathology 71:201-203.
- Lemgruber L, Lupetti P, De Souza W, Vommaro RC, da RochaAzevedo B. 2010. The fine structure of *Acanthamoeba polyphaga* cyst wall. FEMS Microbiol Lett 305: 170-176.
- Marshall, M.M., Naumovitz, D., Ortega, Y. & Sterling, C.R. 1997. Waterborne protozoan

- pathogens. *Clinical Microbiology Reviews* 10(1): 67-85.
- Martinez, A.J & Visvesvera, G.S. 1997. Free-living, amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathology* 7: 583-589.
- Mazur, T., Hades, E. & Iwanicka, I. 1995. The duration of cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. *Tropical Medicine Parasitology* 46: 106-108.
- Mohamed Kamel, A.G. & Norazah, A. 1995. First case of *Acanthamoeba* keratitis in Malaysia. *Transactions of the, Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89: 652.
- Mohamed Kamel Abd. Ghani, Andry Dauni, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina AR & Norazah Ahmad. 2018. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from nasal swabs of normal individual. *Buletin FSK* 2(1): 89-94.
- Mohamed Kamel Abd Ghani, Mimi Fazah, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina AR & Norazah Ahmad. Isolation of *Acanthamoeba* spp. from soil environment. 2018a. *Buletin FSK* 2(1): 89-94.
- Mohamed Kamel Abd. Ghani, Mohd Hasrul Hassan, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina AR & Norazah Ahmad. 2018b. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from the air. *Buletin FSK* 2(2):8-11.
- Mohamed Kamel Abd Ghani, Nurulhuda, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina AR & Norazah Ahmad. 2018c. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from aquatic environment. *Buletin FSK* 2(1):89-94.
- Mohamed Kamel Abd Ghani, Nurulhuda Sharif, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina Abd Rahim & Norazah Ahmad. 2017. Isolation of *Acanthamoeba* spp. from domestic water taps. *Buletin FSK* 1(1):89-94.
- Mohamed Kamel Abd Ghani, Saleha Abdul Majid, Noradillah Samseh Abdullah, Anisah Nordin, Yusof Suboh, Noraina Abd Rahim, Haliza Abdul Mutalib and Norazah Ahmad. 2013. Isolation of *Acanthamoeba* spp. from contact lens paraphernalia. *International Med Journal* 20:1:66-68.
- Page, F.C. 1967. Re-definition of the genus *Acanthamoeba* with descriptions of three species. *Journal of Protozoology* 14:709-724.
- Schuster FL, Visvesvara GS. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *Int J Parasitol* 34: 1001-1027.
- Siddiqui R, Khan NA. 2012. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. *Parasit Vectors* 5: 6. doi: 10.1186/1756-3305-5-6.
- Wang, S.S. & Feldman, H.A. 1967. Isolation of *Hartmanella* species from human throats. *The New England Journal of Medicine* 277(22):1174-9.
- Warhurst, D.C. 1985. Pathogenic free living amoebae. *Parasitology Today* 1: 24-27.

MOHAMED KAMEL ABD. GHANI*

ANDRY DAUNI

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

ANISAH NORDIN

YUSOF SUBOH

NORAINA ABDUL RAHIM

Jabatan Parasitologi dan Entomologi Perubatan,
Fakulti Perubatan, PPUKM,
Jalan Yaacob Latif, Bandar Tun Razak,
56000 Batu 9 Cheras, Kuala Lumpur

NORAZAH AHMAD

Institut Penyelidikan Perubatan,
50588 Jalan Pahang,
Kuala Lumpur, Malaysia

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