

Kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada Bekas Penyimpanan Kanta Sentuh Pengguna Asimptomatik

PUTRI NORADYANI MEGAT HASHIM, MOHAMED KAMEL ABDUL GHANI,
NORHAYATI MOKTAR, ANISAH NORDIN, YUSOF SUBOH, MIMI FAZAH
ZAINUDIN & NORAINA ABDUL RAHIM

ABSTRAK

Keratitis Acanthamoeba merupakan sejenis inflamasi kornea yang dikaitkan dengan penggunaan kanta sentuh. Ia disebabkan oleh *Acanthamoeba* spp., ameba hidup bebas yang tersebar luas di pelbagai persekitaran manusia. Kontaminasi *Acanthamoeba* spp. pada bekas penyimpanan kanta sentuh merupakan faktor kehadiran ameba pada kanta seterusnya menjangkiti mata. Kajian ini bertujuan untuk melihat kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada bekas penyimpanan kanta sentuh pengguna asimptomatik. Seramai 90 orang pengguna kanta sentuh asimptomatik terlibat dalam kajian ini. Sampel diambil secara swab pada bekas kanta sentuh dan dikulturkan ke atas agar bukan nutrien yang dilapisi *Escherichia coli*. Plat agar diperiksa setiap hari bagi mengesan kehadiran ameba. Kultur positif seterusnya disahkan di bawah 'Image Analysis with Video TesT 4.0'. *Acanthamoeba* spp. didapati positif pada lapan daripada 90 sampel (8.7%) dan kesemua strain adalah kumpulan II (polyphagids). Penemuan ini membuktikan *Acanthamoeba* spp. boleh hadir pada bekas penyimpanan kanta sentuh pengguna asimptomatik dan boleh menjadi risiko jangkitan keratitis *Acanthamoeba*.

Kata kunci: *Acanthamoeba* spp., keratitis *acanthamoeba*, kanta sentuh

ABSTRACT

Acanthamoeba keratitis, a type of corneal inflammation associated with contact lense usage is caused by *Acanthamoeba* sp., a free-living amoeba found in various kind of human environment. Contamination of contact lens storage containers by *Acanthamoeba* spp. leads to the amoeba adhering to the lens thus infecting the eye. The objective of this study is to examine for the presence of *Acanthamoeba* spp in the contact lens storage containers of asymptomatic users. Ninety asymptomatic contact lens users participated in this study. Samples were taken by swabbing of contact lens containers and cultured them onto non-nutrient agar with overlaid *Escherichia coli*. Plates were examined daily for the presence of amoeba. The positive cultures were then confirmed under

'Image Analysis with Video TesT 4.0'. Eight of 90 samples (8.7%) were positive for *Acanthamoeba* spp. and all strains identified were from group II (polyphagids). This finding suggests that *Acanthamoeba* spp. can contaminate the storage lens containers of asymptomatic lens users thus can be a major risk factor for *Acanthamoeba* keratitis.

Key words: *Acanthamoeba* spp., *Acanthamoeba* keratitis, contact lens

PENGENALAN

Acanthamoeba spp. merupakan antara protozoa hidup bebas yang tersebar luas di pelbagai persekitaran air, tanah, udara, habuk dan debu serta sekitar habitat manusia. Ia boleh menyebabkan keratitis *Acanthamoeba*, sejenis jangkitan pada kornea (De Jonckheere 1991; Mergeryan 1991; Hoffman & Michel 2001; Marciano-Cabral & Cabral 2003; Schuster & Vivesvara 2004).

Keratitis *Acanthamoeba* telah dilaporkan di pelbagai negara di seluruh dunia dan menjangkiti semua peringkat usia, bangsa atau jantina. Ia dikatakan jarang berlaku dan kebanyakan kes dikaitkan dengan kecederaan mata (Nagington 1974; Ma et al. 1981). Namun, bermula pada tahun 1984, terdapat peningkatan kes yang dilaporkan termasuk yang tidak lagi melibatkan kecederaan pada mata. Bermula pada tahun 1980an, oftalmologis mula memberi perhatian terhadap kemungkinan keratitis yang disebabkan oleh *Acanthamoeba* spp. dikaitkan dengan pemakaian kanta sentuh (Ficker 1988; Schaumberg et al. 1998).

Kajian epidemiologi keratitis *Acanthamoeba* di beberapa negara menunjukkan lebih 80 peratus daripada kes melibatkan pengguna kanta sentuh (Stehr-Green et al. 1987; Radford et al. 2002; Butler et al. 2005). Kes pertama keratitis *Acanthamoeba* yang dilaporkan di Malaysia (Mohamed Kamel & Norazah 1995) melibatkan pesakit memakai kanta sentuh. Begitu juga dengan kes berikutnya (Mohamed Kamel et al. 2000 & 2003) di mana keratitis *Acanthamoeba* dikaitkan dengan pemakaian kanta sentuh.

Pengendalian kanta sentuh yang tidak higienik dikenal pasti menjadi faktor risiko jangkitan; antaranya berenang dengan memakai kanta sentuh, penggunaan larutan salin buatan sendiri serta membilas kanta sentuh dan bekas kanta sentuh dengan air paip domestik (Stehr-Green et al. 1989; CDC 1989; Radford et al. 2002). Kanta sentuh yang dicemari oleh *Acanthamoeba* spp. berkemungkinan menjadi vektor kepada jangkitannya pada mata (Walker 1996; Schuster & Vivesvara 2004; Clarke & Niederkorn 2006). Bagi kes-kes tertentu, *Acanthamoeba* spp. turut dipencilkan daripada peralatan kanta sentuh pesakit keratitis *Acanthamoeba* (Koenig et al. 1987; Heidemann et al. 1990; Dini et al. 2000).

Acanthamoeba spp. juga turut hadir pada peralatan kanta sentuh pengguna yang tidak mengalami keratitis *Acanthamoeba*. Ia dilapor telah dipencilkan daripada bekas kanta sentuh pengguna asimptomatik dan kehadiran bakteria serta fungus menjadi sumber makanan seterusnya menyokong pertumbuhan

ameba ini (Pitts & Krachmer 1979; Donzis et al. 1987; Bottone et al. 1992; Devonshire et al. 1993; Clark et al. 1994).

Selanjutnya organisma ini berkemungkinan akan mencemari kanta sentuh yang disimpan dalam bekas tersebut. Kajian oleh John et al. (1991), Perkovich et al. (1991) dan Beattie et al. (2006) membuktikan *Acanthamoeba* spp. mampu melekat pada permukaan kanta sentuh. Pemerhatian secara mikroskopi oleh Johns et al. (1991) dan Moore et al. (1991) ke atas kanta sentuh pesakit keratitis *Acanthamoeba* berjaya mengesan trofozoit dan sista.

Kajian ini dijalankan bertujuan untuk memencilkan serta mengamati kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada bekas kanta sentuh pengguna asimptomatik yang tidak mengalami keratitis *Acanthamoeba*.

BAHAN DAN KAEDAH

Seramai 90 subjek yang terdiri daripada pemakai kanta sentuh pelbagai jenis terlibat secara sukarela dalam kajian ini. Mereka terdiri daripada dua kumpulan iaitu pengguna dengan tujuan kosmetik dan pengguna dengan tujuan terapeutik. Semua subjek kumpulan pengguna dengan tujuan kosmetik telah mengamalkan pemakaian kanta sentuh selama sekurang-kurangnya 6 bulan manakala kumpulan pengguna dengan tujuan terapeutik pula telah memakai kanta selama sekurang-kurangnya 2 minggu. Kriteria ini ditetapkan bagi memastikan semua subjek telah mempunyai suatu rutin yang tetap dalam pemakaian dan pengendalian kanta sentuh. Semua subjek adalah asimptomatik iaitu tidak mempunyai apa-apa simptom keratitis semasa sampel diperolehi sebagaimana yang telah disarankan oleh Donzis et al. (1987) dan Larkin et al. (1990).

Sampel yang diperolehi adalah daripada bekas penyimpanan kanta sentuh yang telah digunakan oleh subjek. Gambar 1 menunjukkan kaedah persampelan bekas kanta sentuh. Penutup bekas dibuka dalam keadaan aseptik dan tanpa menyentuh bahagian dalam bekas. Larutan dalam bekas kanta sentuh dimasukkan secara aseptik ke dalam media pengangkut dalam botol universal. Swab kapas steril disapu pada permukaan dalam dan pada bebenang bekas kanta sentuh dan dimasukkan ke dalam media pengangkut (Donzis et al. 1987; Larkin et al. 1990).

Media pengangkut kemudian diproses secara filtrasi menurut kaedah Gradus et al. (1989). Secara aseptik larutan dalam botol universal difiltratkan melalui membran penapis 'cellulose nitrate' (Whatman® Sterile Membrane Filter) diameter 47 mm, saiz liang 0.45mm. Setelah itu, membran penapis diletakkan secara terbalik ke atas permukaan plat agar bukan nutrien (NNA) yang telah dititis dengan 1 ml suspensi "heat-killed" *Escherichia coli*. Plat agar seterusnya dieram pada suhu optimum 30°C.

Pada hari ketiga selepas pengkulturan, membran penapis dikeluarkan daripada plat NNA dan pemerhatian ke atas plat dilakukan setiap hari di bawah 'inverted microscope'. Kehadiran *Acanthamoeba* spp. dikesan melalui kehadiran

atau sista. Plat yang tidak dikesan trofozoit atau sista sehingga hari ke-14 akan disahkan negatif.

Acanthamoeba spp. yang dipencilkan disahkan melalui pemerhatian sediaan basah trofozoit dan sista menggunakan perisian 'Image Analysis with Video TesT 4.0' (Ista-Video TesT, Rusia) menggunakan kamera video berwarna model KY-F55BE (1/3" C Mount 3CCD) yang dipasang bersama mikroskop cahaya.

Antara kriteria yang mengesahkan trofozoit *Acanthamoeba* spp. ialah kehadiran satu nukleus dan akantopodium iaitu unjuran pseudopodium berbentuk meruncing dan halus serta kehadiran vakuol kontraktil yang mengecut setiap 30 hingga 60 saat. Kriteria yang mengesahkan sista *Acanthamoeba* spp. pula ialah kehadiran endosista dan ektosista yang jelas. Morfologi ektosista, endosista dan struktur ostiol menjadi kriteria bagi mengelaskan sista ke dalam salah satu daripada tiga kumpulan *Acanthamoeba* spp (Vivesvara et al. 1991).



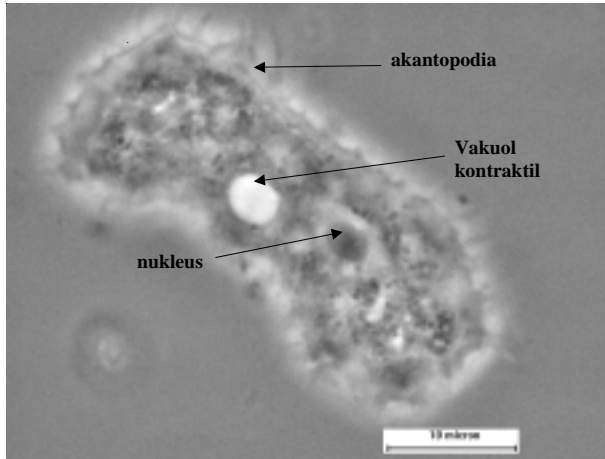
GAMBAR 1. Kaedah persampelan bekas kanta sentuh menggunakan swab

HASIL

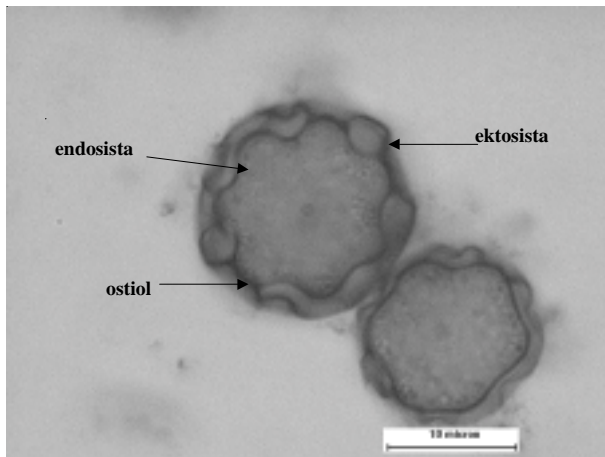
Daripada 90 orang pemakai kanta sentuh asimptomatik yang terlibat dalam kajian ini, lapan strain *Acanthamoeba* spp. dipencilkan daripada bekas penyimpanan kanta sentuh lapan orang subjek (8.7%). Min saiz trofozoit *Acanthamoeba* spp. yang dipencilkan adalah antara 20.75 hingga 28.27 mm manakala min saiz sista adalah antara 14.04 hingga 16.88 mm. Kesemua strain adalah daripada kumpulan II (polyphagids).

Gambar 2 menunjukkan trofozoit *Acanthamoeba* yang mempunyai nukleus yang jelas serta struktur akantopodia yang menjadi kriteria pengelasan berdasarkan genus. Gambar 3 menunjukkan sista *Acanthamoeba* dengan

pewarnaan 'methylene blue.' Sista *Acanthamoeba* mempunyai endosista dan ektosista yang jelas. Bentuk endosista dan ektosista serta ostiol merupakan ciri yang digunakan dalam pengelasan kumpulan *Acanthamoeba*. Strain yang diperolehi dikelaskan kepada kumpulan II (polyphagids) berdasarkan ektosista yang berkedut serta endosista yang berbentuk poligonal serta ostiol berada di bawah lipatan ektosista.



GAMBAR 2. Trofozoit *Acanthamoeba* sp. dengan pemerhatian menggunakan mikroskop kontras fasa



GAMBAR 3. Sista *Acanthamoeba* sp. dengan pemerhatian menggunakan mikroskop cahaya

PERBINCANGAN

Kanta sentuh terutama jenis lembut perlu sentiasa disimpan di dalam larutan simpanan dalam bekas kanta sentuh apabila tidak digunakan. Ini bagi memastikan kanta tidak kering dan rosak (Fauziah 2002). Maka adalah penting bagi pengguna memastikan bekas penyimpanan kanta sentuh dalam keadaan yang bersih daripada sebarang mikroorganisma. Kajian menunjukkan keratitis *Acanthamoeba* dikaitkan dengan kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada bekas kanta sentuh di mana ameba ini turut dipencilkan daripada bekas kanta sentuh pesakit (Koenig et al. 1987; Dini et al. 2000).

Kajian ini membuktikan sebanyak 8.7% daripada sampel bekas penyimpanan kanta sentuh menunjukkan kehadiran *Acanthamoeba* spp. Kesemua strain merupakan kumpulan II (polyphagids) yang merupakan kumpulan paling besar dan paling luas taburannya serta paling banyak dipencilkan (Vivesvara 1991; Marciano-Cabral & Cabral 2003). Kajian oleh Larkin et al. (1990) juga turut memencilkan *Acanthamoeba* spp. pada peratusan yang lebih kurang sama iaitu 8.8%. *Acanthamoeba* spp. hadir pada tujuh daripada bekas kanta sentuh 102 pengguna asimptomatik di mana enam daripadanya adalah bekas kanta sentuh jenis lembut dan enam daripadanya turut menunjukkan kehadiran bakteria yang signifikan.

Kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada persekitaran pengguna kanta sentuh berkemungkinan menyebabkan kontaminasi mikroorganisma ini ke atas bekas penyimpanan kanta. Kajian yang dijalankan oleh Stapleton et al. (1991) ke atas persampelan di rumah pemakai kanta sentuh menunjukkan pemencilan *Acanthamoeba* spp. daripada enam sampel air paip bilik mandi, satu sampel air paip dapur, satu sampel habuk bilik mandi dan dua sampel longkang bilik mandi. Walaupun kanta sentuh dicuci dengan larutan pencuci kormersial yang steril, namun pengguna masih berisiko mendapat jangkitan apabila mencuci bekas kanta dengan air paip. Seal et al. (1992) dan Jeong & Yu (2005) melaporkan kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada bekas kanta sentuh yang turut dikaitkan dengan kehadiran ameba ini dalam air paip domestik di mana pengguna berkemungkinan menggunakan air paip untuk mencuci bekas kanta. Di Malaysia, Anisah et al. (2003) turut melaporkan kehadiran *Acanthamoeba* spp. pada satu daripada 42 sampel swab paip air dan kehadiran ameba ini dikaitkan dengan pengumpulan keladak dan mendakan pada paip air yang merupakan sumber kehadiran bakteria yang menjadi makanan ameba.

Bekas kanta sentuh yang sentiasa dalam keadaan lembap dan tidak bersih menjadi tempat pertumbuhan bakteria dan fungus yang merupakan makanan kepada *Acanthamoeba* spp. Kajian oleh Pitts dan Krachmer (1979), Devonshire et al. (1993) serta Clark et al. (1994) menunjukkan bakteria dan fungus dipencilkan daripada bekas kanta sentuh pengguna asimptomatik. Donzis et al. (1989) membuktikan *Acanthamoeba* spp. hadir pada peralatan kanta sentuh yang menunjukkan kehadiran beberapa spesies bakteria serta fungus. Bottone et al.

(1992) telah melaporkan *Acanthamoeba* spp. berjaya ditumbuhkan di atas plat yang mengandungi bakteria selain *Escherichia coli* iaitu *Xanthomonas maltophilia*, *Flavobacterium breve*, *Pseudomonas paucinobilis* dan *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Hasil kajian menunjukkan *Acanthamoeba* spp. boleh mengkontaminasi bekas penyimpanan kanta sentuh pengguna asimptomatik. Ini boleh menyebabkan risiko keratitis *Acanthamoeba* di mana *Acanthamoeba* yang hadir pada bekas kanta sentuh berkemungkinan mengkontaminasi kanta sentuh seterusnya menyebabkan jangkitan.

Maka, praktis pengendalian peralatan kanta sentuh yang higienik khususnya penjagaan dan pencucian bekas penyimpanan kanta sentuh amat penting dan perlu ditekankan ke atas pengguna kanta sentuh. Penggunaan air paip untuk mencuci bekas kanta sentuh adalah tidak digalakkan. Bekas kanta sentuh perlu ditukar secara kerap bagi mengelakkan pertumbuhan mikroorganisma yang akan mencemari kanta sentuh yang disimpan seterusnya menyebabkan jangkitan.

PENGHARGAAN

Kajian ini dibiayai oleh Geran IRPA 06-02-02-0029EA097. Setinggi-tinggi penghargaan kepada Jabatan Parasitologi dan Entomologi Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia dan semua subjek pemakai kanta sentuh yang terlibat dalam kajian ini.

RUJUKAN

- Anisah, N., Yusof, S., Wan Norliana, A. & Norhayati, M. 2003. Isolation of *Acanthamoeba* sp. from domestic water tap. *Tropical Biomedicine* 20 (1): 87-89.
- Beattie, T. K., Tomlinson, A. & McFadyen, A. K. Attachment of *Acanthamoeba* to first and second generation silicone hydrogel contact lenses. *Ophthalmology* 113: 117-125.
- Bottone, E. J., Madayag, R. M. & Qureshi, M. N. 1992. *Acanthamoeba* keratitis: synergy between amebic and bacterial cocontaminants in contact lens care system as a prelude to infection. *Journal of Clinical Microbiology* 30 (9): 2447-2450.
- Butler, T. K. H., Males, J. J., Robinson, L. P., Wechsler, A. W., Sutton, G. L., Cheng, J., Taylor, P. & McClellan, K. 2005. Six-year review of *Acanthamoeba* keratitis in New South Wales, Australia: 1997-2002. *Clinical and Experimental Ophthalmology* 33: 41-46.
- CDC. 1989. *Acanthamoeba* keratitis associated with soft contact lens. *Morbidity & Mortality Weekly Report* 36 (25): 403-404.
- Clark, B. J., Harkins L. S., Munro, F. A. & Devonshire, P. 1994. Microbial contamination of cases used for storing contact lenses. *Journal of Infection*. 28: 293-304.

- Clarke, D. W. & Niederkorn, J. Y. 2006. The pathophysiology of *Acanthamoeba* keratitis. *Trends in Parasitology* 22 (4): 175-180.
- De Jonckheere, J. F. 1991. Ecology of *Acanthamoeba*. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S385-387.
- Devonshire, P., Munro, F. A., Abernethy, C. & Clark, B. J. 1993. Microbial contamination of contact lens cases in the west of Scotland. *British Journal of Ophthalmology* 77: 41-45.
- Dini, L. A., Cockinos, C., Frean, L. A., Niszl, L. A. & Markus, M. B. 2000. Unusual case of *Acanthamoeba polyphaga* and *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in a contact lens wearer from Gauteng, South Africa. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (2): 826-829.
- Donzis, P. B., Mondino, B. J., Weissman, B. A. & Bruckner, D. A. 1987. Microbial contamination of contact lens care systems. *American Journal of Ophthalmology* 104 (4): 325-333.
- Fauziah, A. M. 2002. *Kanta sentuh: panduan menjaga kejelitaan dan kesihatan mata*. Malaysia: PTS Publications & Distributor Sdn. Bhd.
- Ficker, L. 1988. *Acanthamoeba* keratitis – the quest for a better prognosis. *Eye* 2 (Suppl): S37-S45.
- Gradus, M. S., Koenig, S. B., Hydiuk, R. A. & Decarlo, J. 1989. Filter culture technique using amoeba saline transport medium for non-invasive diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. *American Journal of Clinical Pathology* 92: 682-685.
- Heidemann, D. G., Verdier, D. D., Dunn, S. P. & Stamler, J. F. 1990. *Acanthamoeba* keratitis associated with disposable contact lenses. *American Journal of Ophthalmology* 110: 630-634.
- Hoffman, R. & Michel, R. 2001. Distribution of free-living amoeba (FLA) during preparation and supply of drinking water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 203: 215-219.
- Jeong, H. J. & Yu, H. S. 2005. The role of domestic tap water in *Acanthamoeba* contamination in contact lens storage cases in Korea. *The Korean Journal of Parasitology* 43(2): 47-50.
- John, T. J., Desai, D. & Sahm, D. 1991. Adherence of *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites to extended wear soft contact lenses. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S419-S420.
- Koenig, S. B., Solomon, J. M., Hyndiuk, R. A., Sucher, R. A. & Gradus, M. S. 1987. *Acanthamoeba* keratitis associated with gas-permeable contact lens wear. *American Journal of Ophthalmology* 104: 832.
- Larkin, D. F., Kilvington, S., & Easty, D. L. 1990. Contamination of contact lens storage cases by *Acanthamoeba* spp. and bacteria. *British Journal of Ophthalmology* 74: 133-135.
- Ma, P., Willaert, E. & Juechter, K. B. 1981. A case of keratitis due to *Acanthamoeba* in New York, New York, and features of 10 cases. *The Journal of Infectious Diseases* 143 (8): 662-666.
- Marciano-Cabral, F. & Cabral, G. A. 2003. *Acanthamoeba* spp. as agent of disease in human. *Clinical Microbiology Reviews* 16 (2): 273-307.
- Mergeryan, H. 1991. The prevalence of *Acanthamoeba* from human environment. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S390-391.
- Mohamed Kamel A. G., Anisah, N., Yusof, S., Faridah, H., Michael, L., Norhayati, M. & Norazah, A. 2003. *Acanthamoeba* keratitis is not rare in Malaysia. *Medical Journal Malaysia* 58 (Suppl E): P-36.

- Mohamed Kamel A. G., Faridah, H., Norazah, A. & Noor Rain, A. 2000. A case of waterborne contact lens associated *Acanthamoeba* keratitis from Malaysia: successful treatment with chlorohexidine and propamidine. *International Medical Journal* 7 (1): 63-65.
- 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.
- Moore, M. B., Ubelaker, J., Silvany, R., Martin, J. & McCulley, J. P. 1991. Scanning electron microscopy of *Acanthamoeba castellanii*: adherent to surfaces of new and used contact lenses and to human corneal button epithelium. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S423.
- Nagington, J. 1974. Amoebic infection of the eye. *The Lancet* 28: 1537-1540.
- Perkovich, B. T., Meisler, D. M., McMahon, J. T. & Rutherford, D. 1991. Adherence of *Acanthamoeba* to soft contact lenses. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S421-S422.
- Pitts, R. E. & Krachmer, J. H. 1979. Evaluation of soft contact lens disinfection in the home environment. *Archives of Ophthalmology* 97: 470-472.
- Radford, C. F., Minassian, D. C. & Dart, J. K. G. 2002. *Acanthamoeba* keratitis in England and Wales: incidence, outcome and risk factors. *British Journal of Ophthalmology* 86: 536-542.
- Schaumberg, D. A., Snow, K. K. & Dana, M. R. 1998. The epidemic of *Acanthamoeba* keratitis: where do we stand? *Cornea* 17(1): 3-10.
- Schuster, F. L. & Vivesvara, G. S. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *International Journal of Parasitology* 34: 1001-1027.
- Seal, D., Stapleton, F. & Dart, J. 1992. Possible environmental sources of *Acanthamoeba* spp. in contact lens wearers. *British Journal of Ophthalmology* 76: 424-427.
- Stapleton, F., Seal, D. V. & Dart, J. 1991. Possible environmental sources of *Acanthamoeba* species that cause keratitis in contact lens wearers. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S392.
- Stehr-Green, J. K., Bailey, T. M. & Vivesvara, G. S. 1989. The epidemiology of *Acanthamoeba* keratitis in the United States. *American Journal of Ophthalmology* 107: 331-336.
- Vivesvara, G. S. 1991. Classification of *Acanthamoeba*. *Reviews of Infectious Diseases* 13 (Suppl 5): S369-S371.
- Walker, C. W. B. 1996. *Acanthamoeba*: ecology, pathogenicity and laboratory detection. *British Journal of Biomedical Sciences* 53: 146-151.

Putri Noradyani Megat Hashim
 Mohamed Kamel Abdul Ghani
 Mimi Fazah Zainudin
 Jabatan Sains Bioperubatan
 Fakulti Sains Kesihatan Bersekutu
 Universiti Kebangsaan Malaysia
 Jalan Raja Muda Aziz
 50300 Kuala Lumpur

Norhayati Moktar
 Anisah Nordin
 Yusof Suboh
 Noraina Abdul Rahim
 Jabatan Parasitologi dan Entomologi Perubatan
 Fakulti Perubatan
 Universiti Kebangsaan Malaysia
 Jalan Raja Muda Aziz
 50300 Kuala Lumpur

0