

# ANNALES DE PARASITOLOGIE

## HUMAINE ET COMPARÉE

TOME VIII

1<sup>er</sup> JUILLET 1930

N<sup>os</sup> 3-4

### MÉMOIRES ORIGINAUX

**ANNALES  
DE  
PARASITOLOGIE**

#### LA RÉSISTANCE DES AMIBES PATHOGÈNES A L'ACTION DU FROID, DE LA CHALEUR ET DE LA LUMIÈRE SOLAIRE

Par T. SIMIC

En poursuivant, d'ailleurs sans résultat, des essais d'enkystement de formes végétatives d'*Entamoeba dysenteriae* de culture par l'action du froid, de la chaleur et de la lumière solaire, j'ai pu étudier la résistance des amibes pathogènes envers les agents physiques extérieurs. Les faits constatés me paraissant présenter un intérêt considérable, je tiens à les signaler dans cette courte note.

La question de l'examen des selles pour le diagnostic des amibes pathogènes de l'homme et l'étude de leur longévité en dehors de l'organisme présente une grande valeur pratique, car on doit examiner les selles à l'état frais et dans ce but faire venir le malade au laboratoire, ce qui n'est pas toujours possible.

Si, préalablement, à propos de cette question, nous jetons un coup d'œil sur la bibliographie actuelle concernant la recherche et le diagnostic des amibes pathogènes dans les selles, ainsi que sur leur biologie *in vitro* (culture), on verra que tous les auteurs constatent la grande sensibilité des amibes au froid et insistent sur la nécessité d'examiner uniquement le matériel frais, si on désire éviter les fautes de diagnostic. De même, la température de l'étuve pour leur culture ne doit pas s'abaisser au-dessous de 37°, même pour le temps le plus court, autrement la culture est vite perdue.

L'importance de la température en rapport avec la vitalité des amibes a été soulignée par presque tous les auteurs. Ainsi le Prof. Brumpt, en réponse au Prof. Dobell, qui contestait l'individualité d'*Entamœba dispar* comme espèce nouvelle, écrit ceci : « Il suffit en effet de constater que les cultures les plus abondantes d'*Entamœba dysenteriae* meurent si la température des étuves s'abaisse quelques heures un peu au-dessous de 37° C. »

Drbohlay, qui, en collaboration avec Boeck, a le premier réussi la culture des amibes pathogènes, dit à propos de la culture d'*Entamœba dysenteriae* : « Le refroidissement des cultures positives au-dessous de 30° fit mourir les amibes sans faire paraître les kystes. » Et parlant de la culture d'*Entamœba coli*, il dit : « La température optima semble être 37° ; une culture fut obtenue à 30°. Les amibes meurent ou ne se multiplient pas à la température du laboratoire. » Le même auteur, à propos de la culture d'*Entamœba gingivalis* en rapport avec la température, dit : « La température optima est 37°, mais les amibes vivent aussi à 30°. La culture ne se développe pas à la température ordinaire et les cultures positives meurent sans produire les formes de résistance. »

Moi-même, jusqu'à présent, j'avais attaché également la plus grande attention à la température, soit pour la recherche directe des amibes dans les selles, soit dans leur culture. En principe, je refusais l'examen pour la dysenterie amibienne de toutes les selles envoyées de ville, exigeant toujours que le malade vienne déféquer au laboratoire. J'attribuais tous les insuccès au cours de la culture des amibes à la variation de température de l'étuve.

Pour résoudre la question de la résistance des amibes pathogènes à l'influence des agents physiques extérieurs, j'ai entrepris l'étude de la longévité d'*Entamœba dysenteriae* et d'*Entamœba coli* dans les selles et dans les cultures, ainsi que de l'*Entamœba gingivalis* de culture. Comme matériel pour cette étude, j'ai disposé de deux souches d'*Entamœba dysenteriae* et de plusieurs souches d'*Entamœba coli* et *gingivalis*.

J'ai découvert la première souche d'*Entamœba dysenteriae* chez une femme née dans les environs de Skoplje. J'ai mis en culture les selles fraîches de cette malade, contenant un grand nombre de formes végétatives du type *histolytica* d'*Entamœba dysenteriae*. Cette culture contenait après 30 heures un grand nombre d'amibes, que j'ai inoculées à un jeune chat pour me débarrasser de *Trichomonas intestinalis* et *Blastocystis hominis* qu'on trouvait en abondance avec *Entamœba dysenteriae*. En partant du chat, qui le 3<sup>e</sup> jour déjà présentait des amibes dans les selles, j'ai isolé par la culture

une souche d'*Entamoeba dysenteriae*, qui en est aujourd'hui à sa 71<sup>e</sup> génération.

La culture de cette amibe se trouvait à son 14<sup>e</sup> passage, quand j'ai eu l'idée d'étudier la résistance des amibes envers les agents physiques extérieurs. C'est pourquoi, dans ce premier cas, je n'ai pas utilisé les amibes des selles fraîches.

Lorsque la première souche d'*Entamoeba dysenteriae* était à son 56<sup>e</sup> passage, nous avons découvert un deuxième cas d'*Entamoeba dysenteriae* chez un enfant né dans les environs de Stip et atteint de cette maladie depuis 5 ans. Comme nous étions déjà arrivé à certaines conclusions avec la culture de la première souche d'*Entamoeba dysenteriae* au point de vue de la résistance, ce deuxième cas d'*Entamoeba dysenteriae* est venu compléter nos recherches. Donc, dans ce deuxième cas, nous avons premièrement utilisé les amibes des selles fraîches, et ensuite, avec la culture, nous avons contrôlé les résultats que nous avions déjà obtenus avec la culture de la première souche d'*Entamoeba dysenteriae*.

Les trois amibes, dont les cultures m'ont servi pour ces expériences, ont été cultivées sur Löffler-sérum, recouvert de liquide de Ringer. Pour les cultures des amibes, ce milieu me semble supérieur à tous ceux qui ont été décrits jusqu'à présent.

Lorsque je désirais des cultures plus riches, j'ajoutais de l'amidon de riz, que les trois amibes phagocytent avec voracité, après quoi leur multiplication est très accélérée.

#### A. ACTION DU FROID SUR LA VITALITÉ DES AMIBES DES SELLES ET DES CULTURES

A. Amibes des selles fraîches. — Nous déposons les selles fraîches, contenant la forme végétative des amibes, dans un vase cylindrique, où l'on ajoutait du liquide de Ringer ; après sédimentation, ce liquide recouvrait de deux travers de doigts la surface de la selle. Ces selles ainsi délayées restaient à l'étuve et servaient comme réserve pour les expériences ultérieures. Les amibes des selles, délayées dans le Ringer et mises à l'étuve, non seulement continuent à vivre, mais après adjonction d'amidon de riz, s'y multiplient très activement et leur nombre après quelques heures augmente de 5-10 fois. Cette multiplication ne peut pas se continuer très longtemps et après 24-30 heures les amibes commencent à dégénérer même si on les passe sur des selles fraîches, délayées dans le Ringer. Si, au lieu de Ringer, on délaye les selles avec de l'eau salée, les résultats sont presque les mêmes.

Quand les selles sont préparées de cette façon et laissées à

l'étuve, il n'y a pas de différence au point de vue de la longévité entre *Entamæba dysenterix* et *Entamæba coli* et on peut dire approximativement qu'elles peuvent y vivre 24-30 heures.

La forme végétative d'*Entamæba dysenterix*, dans les selles délayées dans le Ringer, peut résister à la température du laboratoire (16°-18°) pendant 16 heures, tandis que celle d'*Entamæba coli*, dans les mêmes conditions, ne résiste pas plus de 10 heures.

La forme végétative d'*Entamæba dysenterix*, dans les selles délayées dans le Ringer et mises à la température de 0°, se rencontre encore après 8 heures à l'examen direct. Après 10 heures, à la température de la glace fondante, on ne trouvait plus d'amibes à l'examen direct ; mais dans ces selles mises sur le milieu de culture, on a trouvé 24 heures après des amibes comme d'habitude. L'*Entamæba coli*, dans les mêmes conditions, résiste à peine pendant deux heures. A la température de la glace fondante ainsi qu'à la température du laboratoire, les amibes restent contractées et ne donnent aucun signe de vie, mais aussitôt réchauffées à l'étuve de Foot elles exécutent des mouvements normaux et mises sur le milieu de culture elles se multiplient de la même façon que les amibes qui n'ont pas subi l'épreuve du froid.

**B. Amibes de culture.** — La première génération d'*Entamæba dysenterix* de culture résiste à la température de laboratoire jusqu'à 30 heures. La même génération d'*Entamæba coli* et d'*Entamæba gingivalis* ne résiste pas plus de 12 heures.

A la température de la glace fondante, la première génération d'*Entamæba dysenterix* résiste un peu plus de 24 heures, celle d'*Entamæba coli* 4 à 6 heures et celle d'*Entamæba gingivalis* 6 à 7 heures.

A mesure que les cultures de ces amibes ont eu plus de passages, leur résistance au froid augmente. Ainsi la 16<sup>e</sup> génération d'*Entamæba dysenterix* résiste plus de 27 heures à 0°. Celles de la 50<sup>e</sup> génération plus de 48 heures. La 50<sup>e</sup> génération d'*Entamæba dysenterix*, qui est restée 48 heures à la température de la glace fondante, montrait encore après ce temps des amibes vivantes. Transportée sur un nouveau milieu de culture et mise à l'étuve, elle s'est multipliée normalement.

La 10<sup>e</sup> génération d'*Entamæba coli* a résisté pendant 12 heures à la température de la glace fondante ; celles de la 15<sup>e</sup> pendant 20 heures et enfin celles de la 25<sup>e</sup> génération pendant 24 heures. Au-dessus de 24 heures, je n'ai pas pu entretenir l'*Entamæba coli* à 0°, même avec la 30<sup>e</sup> génération.

La 5<sup>e</sup> génération d'*Entamæba gingivalis* a résisté pendant 12 heu-

res à la température de la glace fondante et la 15<sup>e</sup> pendant 18 heures, mais au-dessus de 18 heures, je n'ai pas pu entretenir cette amibe, même avec la 20<sup>e</sup> génération.

Les amibes supportent une température encore plus basse que celle de la glace fondante ; ainsi la 20<sup>e</sup> génération d'*Entamœba dysenterix* a résisté pendant 12 heures à une température qui variait au courant de la nuit entre 3° et 6° au-dessous de zéro.

Si on mélange les amibes de culture appartenant à *Entamœba dysenterix* ou à *Entamœba coli* avec des selles et si on les expose au froid, la résistance est la même que si elles n'étaient pas mélangées avec les selles.

#### B. ACTION DE LA CHALEUR SUR LES AMIBES DES SELLES ET DES CULTURES

Entre les amibes des selles et celles des cultures, il n'existe pas une différence nette au point de vue de la résistance à la chaleur. L'*Entamœba dysenterix* résiste pendant 10 minutes à la température de 47°5 et pour le même temps l'*Entamœba coli* supporte 48°, tandis que l'*Entamœba gingivalis* meurt pour le même temps entre 43° et 44°.

Etant donné que l'*Entamœba coli* résiste à 48° et *Trichomonas intestinalis* seulement jusqu'à 47°, c'est par la chaleur uniquement qu'on peut éliminer le *Trichomonas* dans les cultures où il se trouve avec l'*Entamœba coli*.

#### C. ACTION DU SOLEIL SUR LES AMIBES DES CULTURES ET DES SELLES

Ici également, je n'ai pas remarqué de différence entre les amibes des selles et celles des cultures au point de vue de la résistance à la lumière solaire. Les amibes des selles et des cultures d'*Entamœba dysenterix* et d'*Entamœba coli*, exposées directement au soleil, dont la température variait entre 22° et 25° (mois de février), montrent déjà, après une heure, des signes de dégénérescence et celle-ci est très nette au bout de 3 heures : il y a un grand nombre d'amibes mortes, tandis que celles qui sont restées vivantes présentent des mouvements lents et paresseux, même à la température la plus favorable ; le noyau d'*Entamœba dysenterix* devient nettement visible, l'endoplasme de l'une et l'autre amibe fait voir nettement de nombreuses vacuoles de couleur jaune grisâtre, etc.

Donc, pour le même temps, ces amibes de culture résistent beaucoup plus longtemps à la température de 0° qu'au soleil avec une température d'au moins 22°.

Chez l'*Entamoeba gingivalis* de culture, exposée au soleil dans les mêmes conditions que les deux amibes précédentes, nous n'avons pu remarquer aucun changement.

#### RÉSUMÉ

1. Les formes végétatives d'*Entamoeba dysenteriae*, *coli* et *gingivalis* résistent à une basse température.

2. La forme végétative d'*Entamoeba dysenteriae* est beaucoup plus résistante à basse température que les *Entamoeba coli* et *gingivalis*. Ce caractère biologique peut servir pour le diagnostic différentiel entre ces deux premières amibes.

3. A mesure que les cultures de ces trois amibes ont eu plus de passages, leur résistance au froid devient de plus en plus grande. Ce caractère est surtout nettement exprimé chez l'*Entamoeba dysenteriae*.

4. Au point de vue de la résistance à la chaleur, il existe également une différence nette entre ces trois amibes.

5. *Entamoeba dysenteriae* et *Entamoeba coli* sont sensibles aux rayons solaires et, pour un même temps, dégénèrent beaucoup plus vite au soleil avec au moins 22° de chaleur qu'à la température de 0° à l'ombre.

6. Pour qu'on puisse longtemps entretenir les amibes dans les selles, il faut délayer celles-ci avec le liquide de Ringer ou avec de l'eau salée, car ce n'est pas le froid qui tue les amibes mais l'évaporation.

7. En pratique, on peut faire le diagnostic des amibes (*Entamoeba dysenteriae*) dans les selles, dans les conditions les plus défavorables, 8-10 heures après leur émission, pourvu qu'elles soient délayées tout de suite avec du liquide de Ringer ou de l'eau salée.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BRUMPT (E.). — Etude sommaire de l'*Entamoeba dispar* n. sp. Amibe à kystes quadrinucléés, parasite de l'homme. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, XCIV, 3 novembre 1925.
- DRBOHLAV (J.) — Une nouvelle preuve de la possibilité de cultiver *Entamoeba dysenteriae* type *histolytica*.
- Culture d'*Entamoeba dysenteriae* type *tetragena minuta*.
- Culture d'*Entamoeba coli*.
- Culture d'*Entamoeba gingivalis*. *Annales de Parasitologie*, III, 1925, p. 349-366.