

# ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome 51

1976

N° 4

*Annales de Parasitologie* (Paris), 1976, t. 51, n° 4, pp. 401 à 406

## MÉMOIRES ORIGINAUX

### Étude des Amibes libres dans les eaux de Strasbourg Résultats préliminaires

par B. MOLET, Colette DERR-HARF, J.-E. SCHREIBER et M. KREMER

*Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg* (Directeur : P<sup>r</sup> M. KREMER)  
3, rue Koeberlé, F 67000 Strasbourg.

*Laboratoire de Parasitologie* (Directeur : P<sup>r</sup> A. LEDOUX)  
et *Laboratoire d'Hydrologie* (Directeur : P<sup>r</sup> J.-E. SCHREIBER)  
Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

#### Résumé.

Nous avons isolé 75 souches d'amibes libres des eaux des réseaux de distribution, des piscines et des baignades de Strasbourg. 42 souches ont été identifiées jusqu'à présent. Aucune souche de *Naegleria fowleri* pathogène n'a été trouvée.

#### Summary.

**Study of free living Amoebae in the waters of Strasbourg. Preliminary report.**

75 strains of free living amoebae were isolated from public drinking water supplies, swimming pools and official swimming ponds in Strasbourg. 42 strains were identified till now. No pathogenic strain of *Naegleria fowleri* was found.

*Annales de Parasitologie humaine et comparée* (Paris), t. 51, n° 4

27

## Introduction

L'isolement de *Naegleria fowleri* dans les cas de méningo-encéphalites amibiennes primitives décrits dans le monde chez des sujets jeunes ayant fréquenté des piscines ou des baignades nous a amenés à rechercher et à identifier les amibes libres dans les eaux des réseaux de distribution, des piscines et des baignades de Strasbourg.

## Matériel

Les prélèvements sont faits par le Laboratoire d'Hydrologie de Strasbourg qui contrôle ces eaux du point de vue bactériologique, chimique et physique. Les échantillons sont recueillis stérilement dans des bouteilles de verre d'un litre préalablement stérilisées. Dans les piscines, l'échantillon est prélevé au niveau de l'entrée et de la sortie de l'eau de chaque bassin, à une profondeur d'un mètre. Pour les réseaux de distribution, les robinets sont flambés et on laisse couler l'eau pendant quelques minutes avant le prélèvement.

## Méthodes

Chaque prélèvement est filtré sur filtre à pores de 1,2  $\mu\text{m}$ . Le filtre est déposé à l'envers sur un film de gélose à 2 % coulé dans une boîte de Pétri et recouvert d'*Aerobacter aerogenes* (Singh, 1950). Les manipulations s'effectuent stérilement dans un laboratoire réservé à l'étude des amibes libres. L'incubation est faite à 37° afin de sélectionner les espèces éventuellement pathogènes. Pour éviter la dessiccation, on scelle les boîtes de Pétri au Parafilm.

Les boîtes sont observées quotidiennement au microscope inversé. Les amibes isolées sont repiquées sur gélose à 2 % avec *Aerobacter aerogenes*. Le filtre est enlevé après 1 semaine et le contrôle des boîtes se poursuit pendant 2 semaines. Les prélèvements dans lesquels on n'a pas observé d'amibes sont considérés comme négatifs après ce délai.

Les souches isolées sont identifiées par leur observation en culture sur lame (Pussard, 1974), au microscope à contraste de phase. Des tests de flagellation sont faits dans de l'eau distillée et de l'« Amoeba saline » (Page, 1967).

Les souches de *Naegleria* sont mises en culture sur milieu C.G.V.S. (Willaert, 1971), en vue de leur axénisation. La pathogénicité éventuelle de ces souches de *Naegleria* est testée sur souris par inoculation intra-cérébrale et intra-nasale (Culbertson et coll., 1958).

## Résultats

Sur 124 prélèvements effectués du mois de mars 1975 à la fin du mois d'août 1975, 56 sont positifs (*tableau I*).

Nous avons isolé des amibes libres dans tous les biotopes étudiés. Certains prélèvements contenaient plusieurs souches d'amibes que nous avons séparées.

TABLEAU I. — Origine et résultats des prélèvements.

		Prélèvements positifs	Prélèvements négatifs	Total
Réseau urbain .....		7	16	23
Puits et stations de pompage .....		8	27	35
Réseau des Hospices civils .....		4	7	11
Piscines couvertes chauffées	Piscine A .....	15	9	24
	Piscine B .....	5	5	10
	Piscine C .....	3	1	4
Piscines en plein air	Piscine D .....	4	3	7
	Piscine E .....	4	0	4
Baignades .....		6	0	6
Total .....		56	68	124

Nous avons isolé ainsi 75 souches d'amibes libres. Leur identification est résumée dans le *tableau II*.

L'étude des souches isolées nous a permis de constater la prédominance des *Hartmannella* et des *Acanthamoeba*. Ces deux genres sont présents dans la majorité des biotopes. Des essais de pathogénicité sont en cours pour les souches d'*Acanthamoeba polyphaga* et *Acanthamoeba castellanii* susceptibles d'être pathogènes pour la souris (Cerva, 1971 ; Martinez, 1975).

Nous avons isolé deux souches de *Naegleria*, l'une provenant d'une baignade et l'autre du réseau des Hospices Civils. Nous n'avons pas pu identifier les espèces des *Vahlkampfia* et des *Naegleria*. Pour les *Vahlkampfia*, les kystes à membrane interne lisse et membrane externe irrégulière ressemblent à ceux décrits pour *Vahlkampfia jugosa* (Page, 1967 a). Nous n'avons pas pu comparer cette souche à la souche de

TABLEAU II. — Identification et répartition des souches d'amibes isolées.

	Réseau urbains	Puits et stations de pompage	Réseau des Hospices civils	Piscines couvertes chauffées			Piscines plein air		Baignades (1)	Total
				A	B	C	D	E		
<i>Acanthamoeba polyphaga</i> .....	—	3	—	3	—	—	1	1	2	10
<i>Acanthamoeba castellanii</i> .....	—	1	—	2	—	—	—	1	—	4
<i>Hartmannella vermiformis</i> .....	1	4	1	7	1	—	2	2	3	21
<i>Naegleria</i> sp. (2) .....	—	—	1	—	—	—	—	—	1	2
<i>Vahlkampfsia</i> sp. .....	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2
<i>Platyamoeba stenopodia</i> .....	—	—	—	2	—	—	—	—	—	2
<i>Saccamoeba</i> sp. .....	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1
<i>Souches non identifiées</i> .....	10	—	2	4	9	3	1	4	—	33
Total .....	11	8	4	18	11	3	4	8	8	75

(1) En rivière et en étangs.

(2) Une souche avait été isolée lors d'une étude préalable dans une piscine.

référence. Quant aux souches de *Naegleria* isolées, leurs kystes diffèrent de ceux de *Naegleria gruberi* par l'absence d'ostioles (Page, 1967 ; Jadin J.-M. et coll., 1974). Des essais de pathogénicité par voies intra-cérébrale et intra-nasale ont été faits pour une souche de *Naegleria* que nous avons pu cultiver axéniquement. Ces essais sont négatifs. Il ne s'agit donc vraisemblablement pas de *Naegleria fowleri*.

Une souche de *Saccamoeba* sp. et deux souches de *Platyamoeba stenopodia* (Page, 1969) ont été isolées de l'eau des piscines. Trente-trois souches n'ont pu être identifiées jusqu'à présent. Leur étude est en cours et il est probable que plusieurs souches pourraient être des espèces nouvelles.

## Conclusion

Nous sommes étonnés du petit nombre de *Naegleria* isolées jusqu'à présent dans les eaux de Strasbourg. Nous avons trouvé des *Naegleria* dans le réseau, dans une baignade et dans une piscine lors d'études préalables à cette enquête. Ceci est peut-être dû au fait que les échantillons sont prélevés à faible profondeur dans les piscines. Il faudrait probablement, à l'occasion de leur vidange, prélever des agglomérats fixés aux parois. L'isolement de 75 souches d'amibes libres des puits, réseaux, piscines et baignades de Strasbourg et l'identification d'espèces d'*Acanthamoeba* éventuellement pathogènes justifient la poursuite de cette étude et de ce contrôle biologique préconisé par Jadin et coll. (1972).

## Bibliographie

- CERVA (L.), 1971. — Studies of *Limax* Amoebae in a swimming pool. *Hydrobiologia*, 38, 141-161.
- CULBERTSON (C. G.), SMITH (J. W.) et MINNER (J. R.), 1958. — *Acanthamoeba* observation on animal pathogenicity. *Science*, 127, 1506.
- JADIN (J.-B.), WILLAERT (E.) et COMPÈRE (F.), 1972. — De la nécessité du contrôle biologique des eaux potables. *Bull. Acad. Méd.*, 156, 995-999.
- JADIN (J.-M.), ESCHBACH (H.-L.), VERHEYEN (F.) et WILLAERT (E.), 1974. — Etudes comparatives des kystes de *Naegleria* et d'*Acanthamoeba*. *Proc. Inter. Coll. on primary amoebic meningo-encephalitis and free living amoebae*, Antwerp.
- MOLET (B.) et KREMER (M.). — *Techniques d'études et critères morphologiques pour l'identification des amibes libres*. *Bull. Soc. Science. Vét. & Méd. Comp. Lyon*, (sous presse).
- MARTINEZ (J.), MARKOWITZ (S.) et DUMA (R.), 1975. — Experimental pneumonitis and encephalitis caused by *Acanthamoeba* in mice: pathogenesis and ultrastructural features. *J. Infect. Dis.*, 131, 692-699.

- PAGE (F. C.), 1967. — Taxonomic criteria for limax amoebae, with description of 3 new species of *Hartmannella* and 3 of *Vahlkampfia*. *J. Protozool.*, 14, 499-521.
- PAGE (F. C.), 1969. — *Platyamoeba stenopodia* n. g., n. sp., a fresh-water amoeba, *J. Protozool.*, 16, 437-441.
- PUSSARD (M.), 1974. — La morphologie des amibes libres ; intérêt et principes d'études. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 54, 249-257.
- SINGH (B.-N.), 1950. — A culture method for growing small free-living amoebae for the study of their nuclear division. *Nature*, 165, 65-66.
- WILLAERT (E.), 1971. — Isolement et culture *in vitro* des amibes du genre *Naegleria*. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 51, 701-708.
-