

ETUDES COMPARATIVES DES KYSTES DE *NAEGLERIA* ET D'*ACANTHAMOEBA*

par

J. M. JADIN (*), H. L. ESCHBACH (**), F. VERHEYEN (**) et E. WILLAERT (***)

Résumé — Une étude comparative de la forme kystique d'espèces appartenant au genre *Naegleria* et au genre *Acanthamoeba* est faite au microscope électronique à balayage. Une différence fondamentale est observée chez *Naegleria* par l'absence de replis à la surface kystique tandis que chez *Acanthamoeba* de nombreux replis sont observés. Chez *Naegleria* la fréquence de pores est pris en considération.

Cette étude comparative de la morphologie extérieure des kystes de différentes espèces du genre *Naegleria* et du genre *Acanthamoeba* (*Hartmannella*) a été faite sur un grand nombre de spécimens (plus d'un millier de kystes examinés); elle a permis d'attirer l'attention sur l'existence de caractères morphologiques constants peu visibles en microscopie photomicroscopique mais qui deviennent appréciables vus en microscopie électronique à balayage.

Ces caractères sont la qualité de la surface lisse ou plissée, la fréquence des pores et les caractères morphologiques des bords des pores.

Ces caractères pourraient servir comme critères taxonomiques pour la détermination de ces amibes.

Matériel et Méthodes

Les trophozoïtes des différentes espèces utilisées ont été cultivées sur agar à 3 p. cent recouvert d'*Aerobacter aerogenes* tués à la chaleur.

Lors du vieillissement des cultures, les trophozoïtes s'enkystent. Ce sont ces kystes qui ont servi d'objet à cette étude.

Ces amibes proviennent de la Collection des Protozoaires du Département de Protozoologie de l'Institut de Médecine tropicale (Prof. J. B. Jadin).

(*) Département de Radiobiologie, Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire, B-2400 Mol.

(**) B. C. M. N., Euratom, B-2440 Geel.

(***) Département de Protozoologie, Institut de Médecine Tropicale, Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen.

Souches

1) *Naegleria* :

N. gruberi : souche 1518 (C. C. A. P., Cambridge).

N. flowleri : souches 0 359 et 0 360 (Jadin *et al.*, Belgique); HB-1 (Butt, 1966, U. S. A.).

N. aerobia : souche Na-1 (Singh et Das, 1972, India).

N. jadini nov. sp. : souche 0 400 (Willaert et Le Ray, 1973, Belgique).

Naegleria spp : souches A-5, A-9, PPMFB-2 et PPMFB-6 (Anderson et Jamieson, Australia).

2) *Acanthamoeba (Harmannella)* :

A. castellanii : souche Neff (C. C. A. P., Cambridge).

A. polyphaga (K. G. M. Adam).

A. (H.) culbertsoni : souche A-1 (K. G. M. Adam).

A. (H.) rhyodes : souche 1534 (C. C. A. P., Cambridge).

Les kystes ont été fixés suivant la technique à l'osmiumbichlorure de mercure décrite par Parducz. Après déshydratation, elles ont été recouvertes d'une mince couche d'or et examinées à l'aide du microscope électronique JEOL 50 SEM.

Résultats

Pour une souche déterminée, les résultats se sont avérés constants, malgré le nombre de subcultures.

Au sein des *Naegleria*, des distinctions sont possibles parmi les différentes espèces. Ces amibes ont toutes des kystes dont la surface est non plissée. Cette surface est lisse dans toutes les espèces sauf chez *N. gruberi* chez qui elle est rugueuse.

Le nombre moyen de pores par kyste s'établit comme suit : 7,2 pour *N. gruberi*; 1,6 pour *N. flowleri*; 1,1 pour *N. jadini*, aucun pore n'a été observé chez *N. aerobia*.

Les bords des pores apparaissent lisses chez toutes les *Naegleria* à l'exception de *N. gruberi* où ces pores sont entourés d'une véritable évagination de la paroi. L'épaisseur moyenne de la paroi des pores des kystes est dans toutes les espèces de l'ordre de 0,4 μm , sauf chez *N. gruberi* chez qui elle est de 1 μm .

Les kystes de *A. (H.) culbertsoni* et de *A. (H.) rhyodes* présentent une surface plissée mais avec des replis peu profonds et peu nombreux. Entre ces replis, la surface des kystes est lisse.

Nous avons pu observer quelques rares pores; il est cependant probable que les pores soient cachés par certains replis et ne soient donc pas visibles.

Les plis semblent plus nombreux chez *A. (H.) rhyodes* que chez *A. (H.) culbertsoni*.

Les kystes de *A. castellanii* et *A. polyphaga* présentent une surface très plissée avec des replis très profonds. La surface est lisse entre les replis. Sur plus d'une cinquantaine de kystes examinés, nous n'avons pas observé de pores.

Morphologiquement nous ne pouvons pas faire de distinction entre les kystes de *A. polyphaga* et *A. castellanii*.

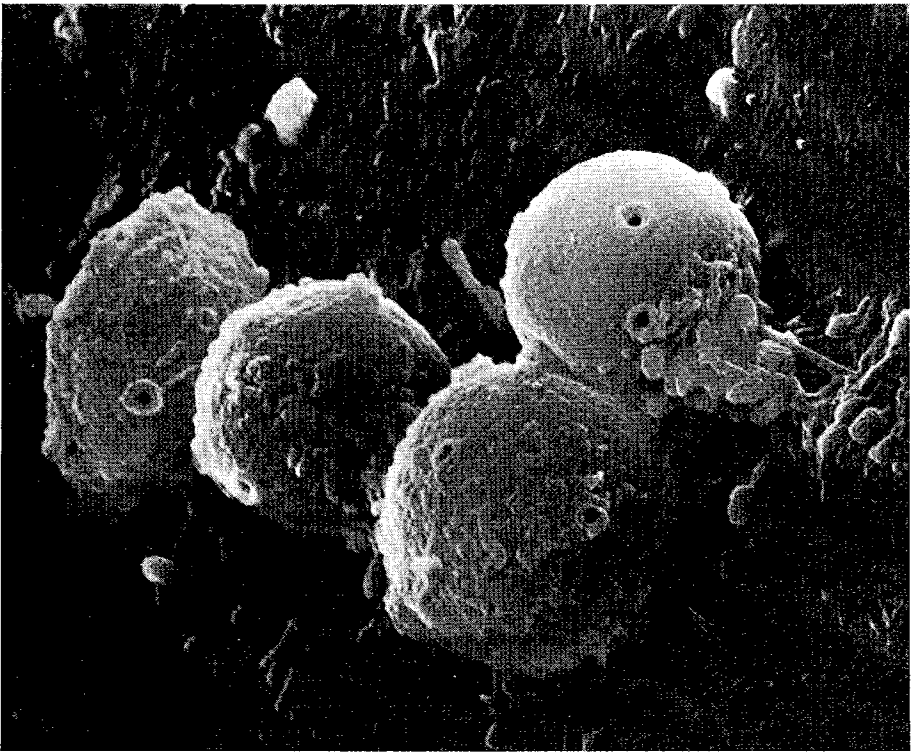
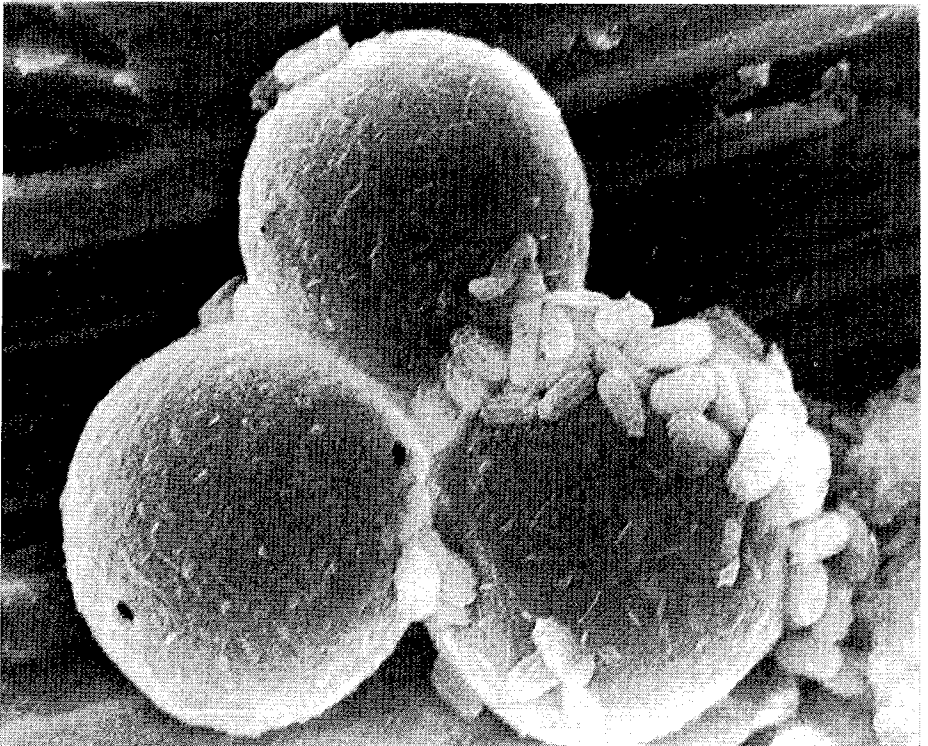


Figure a — Kystes de *Naegleria gruberi* × 4.400



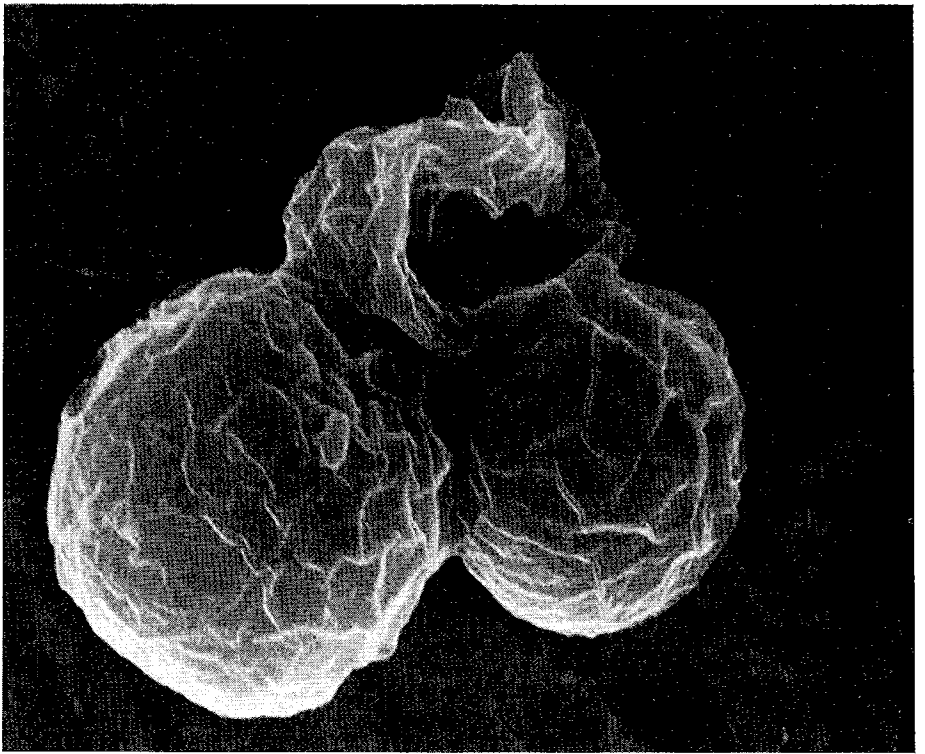
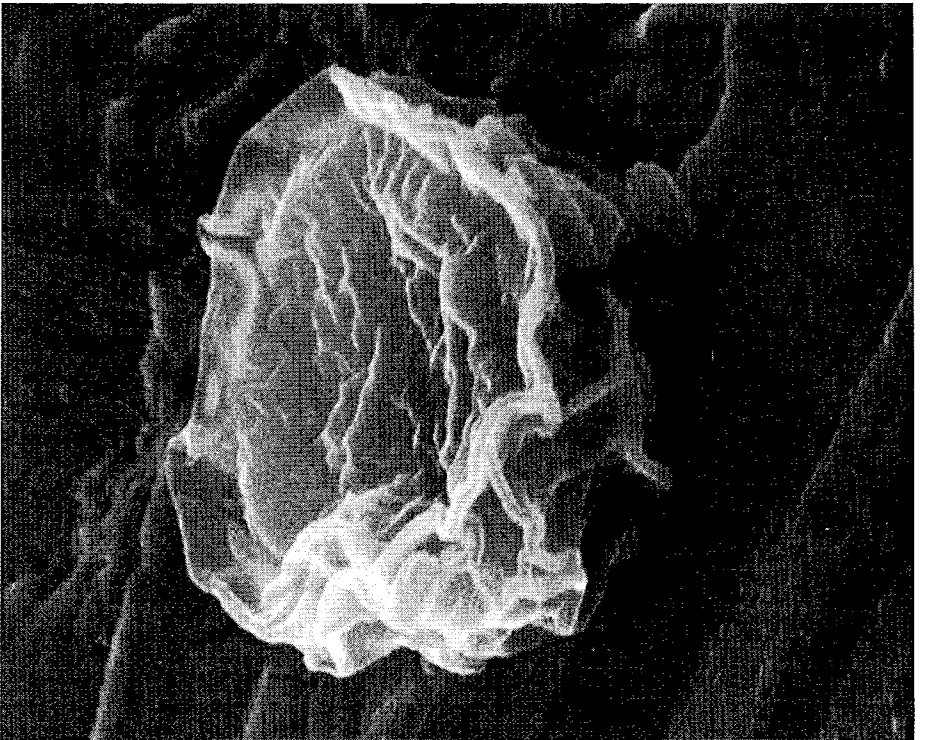


Figure a — Kystes d'*Acanthamoeba polyphaga* \times 3.700



Discussion

L'aspect de la surface des kystes permet à lui seul de faire une distinction entre les amibes du genre *Naegleria* d'une part et du genre *Acanthamoeba* (*Hartmannella*) d'autre part en se basant sur la présence ou l'absence des plis.

Ensuite, c'est l'aspect de la surface des kystes puis le nombre moyen de pores qui sont intéressants au point de vue taxonomique (tableau 1).

TABLEAU 1
Caractères morphologiques distinctifs de la surface des kystes d'amibes

Genres	Présence de replis	Aspect de la surface	Nombre moyen de pores
<i>Naegleria</i>	aucun		
<i>N. fowleri</i>		lisse	1,6
<i>N. jadini</i>		lisse	1,2
<i>N. aerobia</i>		lisse	(×)
<i>N. gruberi</i>		rugueux	7,2
<i>Acanthamoeba</i> (<i>Hartmannella</i>)			
<i>A. castellanii</i>	très nombreux profonds	lisse	(××)
<i>A. polyphaga</i>		lisse	(××)
<i>A. (H.) culbertsoni</i>	nombreux superficiels	lisse	(××)
<i>A. (H.) rhyodes</i>		lisse	(××)

(×) Aucun pore observé.

(××) Pores probablement cachés entre les plis de la membrane externe.

Quant aux kystes d'amibes qui nous ont été données comme étant des *Naegleria* mais sans détermination de l'espèce, nous avons remarqué une grande diversité morphologique dans la surface des kystes de ces espèces sauf chez la souche A9. La souche A9 a l'aspect typique d'une vraie *Naegleria*, à surface lisse et dont le nombre moyen de pores par kyste est 2,5. Peut-être s'agit-il là d'une nouvelle espèce ?

Conclusions

Les kystes des amibes appartenant aux genres *Naegleria* et *Acanthamoeba* (*Hartmannella*) présentent des caractéristiques de surface qui, examinées en microscopie électronique à balayage, peuvent être utilisées comme critère taxonomique.

REFERENCE

Parducz, B. (1967) : Ciliary movement coordination in ciliates. Int. Rev. Cytol. **21**, 91.

DISCUSSION

R. Deschiens : Je voudrais demander si cette présence de pores au niveau des kystes, comme ceux que l'on observe chez les amibes du type *Limax*, existent également chez d'autres genres d'amibes, en particulier chez les *Entamoeba*.

J. M. Jadin : Pas à ma connaissance.

M. Pussard : Vous avez signalé certaines différences entre les kystes de diverses souches d'*Acanthamoeba*. Ne pourraient-elles être liées à des degrés variables de dessiccation des lots de kystes examinés ?

J. M. Jadin : Les kystes étaient du même âge. Nous avons travaillé dans des conditions bien déterminées afin d'éviter précisément ce type d'objection.

M. Pussard : L'observation en microscopie photonique des kystes d'*Acanthamoeba* permet dans une certaine mesure de prévoir que les ostioles ne puissent être facilement mis en évidence par le microscope à balayage. L'enveloppe externe paraît en effet former la surface externe de l'opercule sans solution de continuité. De plus le bourrelet entourant l'ostiole s'intègre dans le système de plis superficiels caractéristiques des Kystes de ces *Acanthamoeba*.

D. Le Ray : Sur les belles images que vous nous avez présentées, la dimension réduite des pertuis du kyste de *N. fowleri* et de *N. jadini* est frappante. D'un point de vue fonctionnel, avez-vous des images permettant de préciser le processus du dékystement ? Le trophozoïte parvient-il à se glisser à travers ce pertuis, ou s'agit-il là d'un point de moindre résistance offert par une dissolution enzymatique ?

J. M. Jadin : C'est une question extrêmement intéressante, mais je n'ai pas encore eu de coupes bien réussies au microscope électronique de ces kystes, alors je n'oserais pas me prononcer.

Sur certaines images en microscopie électronique à balayage on peut observer une amibe sortant d'un kyste, mais sort-elle d'un pore ou non ? Je ne saurais le certifier.

D. Le Ray : Au cours de notre étude descriptive de *N. jadini* avec Wiljaert, nous avons observé dans le kyste la formation et le développement d'une vacuole paraissant provoquer l'éclatement de la paroi par turgescence. Ce procédé constituerait une troisième alternative des modalités de dékystement, les pertuis n'y intervenant pas.

D'autre part, à propos de l'organisation de ces pertuis, vos images en balayage suggèrent d'envisager une définition morphologique distinguant les pores du kyste de *Naegleria* des ostioles du kyste d'*Acanthamoeba*. Vous n'avez pas encore pratiqué de coupes permettant d'obtenir ces renseignements ?

J. M. Jadin : J'espère pouvoir le faire prochainement. Les données ultrastructurales que je possède déjà ne me permettent pas de distinguer un pore d'une ostiole ou d'un pertuis. Ces trois termes semblent relever de la cytologie classique.