

CONCLUSIONS AU COLLOQUE INTERNATIONAL
SUR LA MENINGO-ENCEPHALITE AMIBIENNE PRIMITIVE
ET LES AMIBES LIBRES

par

J. B. JADIN

Il serait téméraire de vouloir rassembler en quelques énoncés chacune des observations qui ont été présentées au cours de ce Colloque. Etant donné le temps limité, dont nous disposons, il faut nous résoudre à vous exposer ce que nous considérons comme essentiel, en demandant à chaque auteur son indulgence.

La nature et les descriptions des amibes « limax » ont été remarquablement présentées par Das, Pussard, Carosi et J. M. Jadin.

La morphologie et l'ultrastructure permettent de caractériser les amibes pathogènes encore faut-il savoir les cloner et acquérir la certitude que les souches isolées sont d'une absolue pureté. Das comme Pussard nous en ont fourni les moyens. Das, à l'aide de très nombreuses images fait une étude exhaustive de protozoaires qui font l'objet même du colloque et insiste sur les classifications établies par son maître Singh et par lui-même.

L'exposé de Pussard, illustré de façon magistrale, faisait fort bien comprendre l'importance de l'utilisation du microscope à contraste de phase pour la mise en évidence de la centrosphère avant et au cours de la division cellulaire, base de la classification. Pour isoler on ne doit pas se limiter à des essais élémentaires et croire qu'il suffit de déposer un filtre millipore ou sartorius sur une plaque d'agar enrichie avec de l'aerobacter pour mettre en évidence les amibes d'une collection d'eau. Parfois se seront les bactéries vivantes ou l'aérobiose qui favorisent le développement ainsi que Chang (1971) l'a bien établi.

J. M. Jadin nous apporte des documents nouveaux qui permettent de contrôler en microscopie électronique ordinaire et à balayage l'aspect des kystes et de visualiser les pores dont l'existence a été mise en doute pour quelques variétés. J. M. Jadin et ses collaborateurs montrent que les kystes de *N. gruberi* avec leurs nombreux pores, sont nettement distincts des kystes de *N. fowleri*, ce qui permet d'en faire des espèces distinctes; c'est d'ailleurs ce que confirmeront les recherches sérologiques.

Carosi entreprend une comparaison entre l'ultrastructure d'*Entamoeba moslikovski* et les amibes « limax ». Il présente, à cette occasion une étude détaillée des divers organites et relève la présence de « virus like » dans les amibes du groupe *Hartmannella - Naegleria*. Cet exposé est très abondamment illustré.

Le travail original de Preston et O'Dell concerne la morphologie de l'appareil flagellaire des *Naegleria* et les propriétés de la surface cellulaire au cours du cycle chez cet amoebo-flagellate. Il fallait, dans ce but, obtenir séparément les deux phénotypes amœbiens et flagellés ce qui a été obtenu grâce à l'oxyde de deuterium qui entraîne le retour des flagellates au stade amœbien et bloque la genèse flagellaire. Le transfert ultérieur dans l'eau distillée détermine une flagellation synchrone. En multipliant les moyens d'investigations, microscopie photonique, microcinématographie et microscopie électronique avec l'aide d'inhibiteurs de synthèse de l'ADN, de l'ARN (actinomycine D) et des protéines (cyclohimide), les auteurs ont pu examiner la morphogénèse cellulaire et suggère la production *de novo* d'une partie au moins des composants flagellaires.

Par ailleurs, la concavaline A met en évidence le caractère dynamique de la surface cellulaire, elle permet aux auteurs de noter des différences quant aux sites récepteurs marqués chez *N. gruberi*, *N. jadini* et *Tetramitus rostratus*.

Au cours de la séance consacrée à la clinique de la méningo-encéphalite amibienne primitive J. Hermanne et J. Vandepitte et ses collaborateurs font connaître les aspects cliniques et épidémiologiques de cette affection diagnostiquée cinq fois dans notre pays depuis 1970.

J. Hermanne est devenu un maître en la matière. Il a suivi la très courte évolution de cette méningite fulgurante avec ses collaborateurs. Ce qui frappe avant tout, c'est la vigueur de ces adolescents tout sportifs qui sont frappés et auprès desquels le thérapeute reste impuissant tant l'évolution de la maladie est rapide et que l'on amène à l'hôpital quand le mal a fait son œuvre. La triade symptomatique céphalées, vomissements, fièvre devraient conduire à l'examen systématique des liquides céphalo-rachidiens abactériens, où il est possible de déceler les protozoaires à pseudopodes actifs et à grands caryosomes au milieu des macrophages. Dans le doute, la culture du L. C. R. sur milieu approprié et l'inoculation à la souris apporteront une confirmation. L'état du patient s'aggrave cependant très vite. Aux symptômes de l'encéphalite succèdent ceux de la méningite, le délire augmente ainsi que l'agitation, puis c'est l'état stuporeux et le coma.

Le tout a duré de deux à quatre jours. Seul l'Amphotéricine B mis au point chez la souris par Das, a permis dans les mains de Carter de sauver un cas en Australie.

Au cours de la discussion, R. Deschiens attire l'attention sur la discrimination entre les MEAP et les abcès amibiens du cerveau. Dans la MEAP l'évolution est suraiguë, le liquide céphalo-rachidien est purulent, il y a souvent un rapport avec la natation. Dans la méningite à *E. histolytica* l'évolution est subaiguë ou chronique, c'est le tableau clinique d'une tumeur et le liquide céphalo-rachidien est clair.

Les malades anversois fréquentaient des piscines chauffées, le malade de Vandepitte avait nagé dans un canal d'eau chaude dérivant d'une usine. Cervà avait isolé la souche tchèque dans les mêmes circonstances. C'est le maintien de l'eau à température élevée qui favorise la multiplication de l'amibe pathogène, surtout quand les eaux sont polluées ainsi que nous avons pu le constater.

Vandepitte, Van den Driessche, Van Dyck et De Jonckheere ont pu rapidement établir la nature de l'amibe isolée chez leur malade à partir de la culture et grâce à la réaction d'immunofluorescence. Cervà, à la suite de Siddiqui et Balamuth reconnaît également la valeur de cette technique à condition de disposer de sérums spécifiques.

Dans le cas d'une MEAP, c'est certainement une confirmation rapide des plus précieuses. Stamm l'avait d'ailleurs établi à partir des coupes histologiques de cerveau d'un de nos premiers malades. Avec Jager, il a pu déceler une *Hartmannella* dans un abcès du cerveau chez un patient atteint d'une maladie de Hodgkin et qui avait été traité avec des antimitotiques. L'immunofluorescence indirecte sur coupes histologiques a permis à Stamm au moyen de sérums spécifiques de différencier les *Naegleria* des *Hartmannella*, mais il existe des réactions croisées indubitables entre les différentes souches de ces deux genres.

Fait remarquable, avec cette technique Stamm a pu reconnaître les huit cas étudiés par Carter et identifier l'amibe étudiée par Derrick et Wenyon en 1948 comme *N. fowleri*. L'auteur fait observer que les tissus ne peuvent être fixés avec des sels de mercure et la fixation doit être effectuée aussitôt après la mort.

Trois cas anversoïses ont permis à J.J. Martin d'accomplir chez l'homme une étude neuropathologique complète de la MEAP, digne de la grande maison à laquelle il appartient.

La porte d'entrée est la muqueuse nasale desservie par le nerf olfactif, le long duquel les amibes progressent pour traverser la lame criblée de l'ethmoïde. La leptoméningite est modérée, l'invasion de la matière grise est centripète le long des espaces de Virchow-Robin's. Une nécrose inflammatoire purulente domine dans les couches superficielles. Les amibes sont aisément reconnaissables dans les endroits de lyse au pourtour des lésions nécrotiques. Il y a cependant, souvent des difficultés pour mettre en évidence les amibes au centre des endroits sévèrement enflammés.

Das nous montre le rôle essentiel du stade flagellé de *N. aerobia* lors de la contamination à partir de l'eau et la place du flagellate dans l'épidémiologie. Il suffit de 2.000 *Naegleria* de la souche N1 à l'état flagellé pour contaminer à coup sûr et plus rapidement la souris, alors qu'il faut 20.000 trophozoïtes de la souche HB-1 de Culbertson pour obtenir une méningo-encéphalite chez la souris, ainsi que Singh et Das l'avaient observé.

Das rappelle que le moment le plus favorable pour les contaminations dans les régions tropicales est la saison des pluies alors que les enfants jouent souvent dans les eaux des marais et dans les eaux polluées par les égouts, dont il a pu isoler *N. aerobia* avec Singh.

Le rôle des flagellates est peut-être considérable et explique peut-être la raison pour laquelle il est si difficile d'isoler des *N. fowleri* d'une eau où des cas ont été observés. Il faudrait que l'eau analysée soit prélevée au moment et à l'endroit où le sujet se contamine. S'il en était autrement et si l'on isolait à tout coup *N. fowleri* les cas de MEAP seraient beaucoup plus nombreux.

Willart et Jamieson ont exposé les études sérologiques très minutieuses qu'ils ont réalisées et qui permettent d'établir qu'une seule et même

espèce de *Naegleria* est à la base des cas de méningo-encéphalites observés en Australie, aux USA, en Tchécoslovaquie et en Belgique.

La technique d'agglutination des *Naegleria* mise au point par Anderson et Jamieson est spécifique. La préparation laborieuse des antigènes solubles suivant les techniques de Lille, d'après Capron, Biguet et leurs collaborateurs, conduit à définir l'image électrophorétique de *N. fowleri* et grâce aux immunosérums obtenus d'établir que l'une ou l'autre des souches isolées dans différents pays permet d'absorber entièrement les anticorps produits par les autres souches d'où qu'elles viennent.

Les travaux de Frank montrent le rôle joué par les animaux à sang froid dans la dispersion des amibes « limax ». Les reptiles, les batraciens, les poissons portent dans leurs intestins divers représentants des *Acanthamoeba*, des *Naegleria* et *Vahlkampfia* ce qui montre bien que tous les animaux en contact avec le sol et l'eau sont susceptibles de disséminer les amibes.

Kasprzak et Mazur fournissent des précisions concernant les souches d'*Acanthamoeba* isolées à partir de l'eau de lacs et de rivières de la région de Poznan en Pologne. Parmi les souches qu'ils ont étudiées certaines causent exclusivement des lésions dans le cerveau ou le poumon, d'autres se retrouvent dans les deux. Le pouvoir pathogène n'est pas constant pour chaque souche pour certaines il varie, pour d'autres il persiste au cours des passages.

Les souches étudiées ont été reconnues comme des *A. astronyxis*, *A. polyphaga* et *A. castellanii*.

Schuster apporte la preuve de l'existence d'un agent infectieux associé au *Naegleria*. Ainsi que Diamond l'a établi pour *E. histolytica*, Schuster a pu observer la présence de particules virales dans les amibes du genre *Naegleria*. La présence d'un agent infectieux qui cultive dans les amibes pathogènes et les amibes non pathogènes font penser au rôle que peuvent jouer ces amibes en pathologie humaine. Ce magistral exposé rend évident la contamination des amibes par le virus, les modalités de celles-ci et aussi la dégénérescence cellulaire qu'elle entraîne.

J. B. Jadin attire à nouveau l'attention sur la dispersion des amibes « limax » dans l'eau, l'air et le sol; l'homme et les animaux font partie du cycle qui les maintient et favorise leur dispersion. Pathogènes par elles-mêmes; elles peuvent aussi servir de vecteurs aux bactéries et plus particulièrement aux mycobactéries. Il insiste sur le danger qu'il y a de conserver des eaux épurées dans des réservoirs exposés aux contaminations par les animaux ce qui rend inefficace le traitement préliminaire. C'est en partie la raison des difficultés rencontrées et qui fait que trop souvent on retrouve des amibes dans les eaux de réseau.

M. Leclerc, au cours de la discussion fait justement observer les difficultés que rencontrent ce problème et plus particulièrement la mise au point d'une législation tant pour la réglementation des piscines que pour les eaux de réseau.

K. Adam apporte le fruit de longues et patientes recherches menées depuis dix ans à Edinbourg sur les *Acanthamoeba*. En étudiant avec Blewett le DNA de ces amibes, elle a pu établir la proportion des bases nucléaires guanine/cytosine qui est de 61 p. cent. Cependant les valeurs obtenues pour les bases de DNA de *A. palestinensis*, *A. culbertsoni* et *A. astronyxis*

ne concordaient pas avec celles fournies par l'analyse d'*A. castellanii*. La plus grande différence (11 p. cent g/c) existe entre les espèces d'*A. astronyxis* et *A. castellanii* qui présentent aussi les plus grandes différences morphologiques. Mais on peut comparer avec plus de certitude le génôme des organismes par la technique de l'hybridation du DNA. Blewett a pu démontrer l'accouplement de près de 95 p. cent des bases quand les DNA de trois souches d'*A. castellanii* sont hybridées avec le DNA de la souche Neff. Au contraire, la conjugaison des bases d'*A. polyphaga* et *A. castellanii* se faisaient dans des proportions moindres. Entre *A. astronyxis* et *A. castellanii* il y a moins d'homologie encore.

Willært précise qu'il est possible de séparer par les analyses immuno-électrophorétiques les espèces du genre *Naegleria*, trois espèces ont été confirmées et deux autres sont mises en évidence, ce qui paraît s'accorder avec les vues que Cervà se proposait d'exposer à Clermont-Ferrand. Les parentés antigéniques au sein du même genre sont importantes, tandis que la parenté des *Naegleria* avec les autres genres est inconsistante.

E. Dyner soulève un problème qui peut être d'importance, la présence de flagellés et d'amibes dans les voies urinaires chez les sujets soumis aux immunodépresseurs et les dérivés cortisoniques.

Ces observations attirent une fois de plus l'attention qu'il faut accorder au contrôle biologique de l'eau et combien il faut éviter chez les sujets soumis à des médications dépressives l'introduction de protozoaires libres qui peuvent se développer chez l'homme.

Sur vingt piscines contrôlées dans l'agglomération bruxelloise, aucune ne s'est montrée dépourvue d'amibes. Sur 95 essais menés par Madame Desmedt, 18 seulement se sont montrés négatifs. Pour 26 contrôles outre les amibes, Madame Desmedt retrouve des anguillules, des rotifères, des flagellés et parfois des acariens. Sur 77 échantillons contenant des amibes, sept seulement ne répondaient pas aux normes bactériologiques.

Quand aux eaux minérales, pour 16 marques différentes, quatre marques contenaient des amibes et cela à plusieurs reprises, même dans 50 ml. Une eau contenait en outre des paramécies. Voilà qui confirme bien les observations que nous avions déjà signalées et la nécessité du contrôle biologique de l'eau. N'oublions pas à ce propos que l'eau de réseau comme l'eau minérale est utilisée pour la préparation des biberons des nouveau-nés.

Y a-t-il un remède à tout cela ? C'est ce que se sont efforcés de démontrer A. Derreumaux et ses collaborateurs. L'emploi du chlore actif bien compris détruit les matières organiques et les amibes. Toute une série d'essais menés en laboratoire ont permis d'en établir les principes : 0,5 mg de chlore par litre, sous la forme active de l'acide hypochloreux empêche tout développement des amibes.

Encore faut-il pour obtenir ce résultat dans les piscines que le pH soit maintenu entre 7,4 et 7,6 que l'eau d'appoint soit surchlorée, que les filtres à sable soient rigoureusement contrôlés. Ainsi donc un moyen existe, mais son application demeure soumise à des exigences dont il ne faut pas sous-estimer les difficultés, surtout si elle doit être quotidienne.

Parvenant au terme de ce trop long rapport, il nous reste à remercier tous ceux qui ont collaboré à la préparation de ce Colloque et à toutes les contingences que cela comporte. Comme chaque année, Monsieur

Graré, directeur d'administration de notre Institut a montré sa maîtrise. Mademoiselle Gillis a retranscrit tous les textes, aidée par Mademoiselle C. Butaye. Nous leur disons notre gratitude. Je remercie aussi Jean Verboon, J. Coolans et R. Vogels qui ont assuré avec diligence l'impression de tous les textes.

Mes remerciements vont à tous ceux qui, par leur aide précieuse ont assuré le succès de cette réunion, aux orateurs et à tous ceux qui ont pris part aux discussions.

Inutile de dire combien nous sommes reconnaissant au Directeur de cette maison, au Professeur P. G. Janssens d'avoir proposé ce sujet comme thème des présentes réunions.
