

RECHERCHE DES AMIBES LIBRES DANS L'EAU.

MOULAHM T; MERADJI A; BOUHOUCHE I.

Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie, CHU Constantine.

RÉSUMÉ :

Certaines amibes, vivant habituellement dans le milieu extérieur, peuvent se comporter comme parasites et provoquer chez l'homme des atteintes cérébrales ou oculaires redoutables. Nous rapportons les résultats d'une enquête portant sur la recherche des amibes libres susceptibles d'être pathogènes pour l'homme dans les eaux douces d'origines diverses dans la ville de Constantine. Sur les quarante prélèvements d'eau provenant de piscines, puits, oueds, lacs, eau de robinet, eau de source et de bassins, six prélèvements sont positifs où seules les espèces du genre *Acanthamoeba* sont isolées.

Mots clés : Amibes libres, Acanthamoeba, Naegleria.

ABSTRACT : SEARCH FREE-LIVING AMOEBAE IN WATER.

Some amoebae living usually in the outer ambience, can behave as parasitical, and induce human's brain or ocular redoubtable disease. We report results of a survey that is about searching free-living amoebae which can be pathogenic for human being, in different sample of freshwater in Constantine city. Free-living amoebae are isolated from six sample of water gathering from swimming pool, well, wadi, lakes, and pelvis, only species of *Acanthamoeba* are identified.

Key words : Free-living amoebae, Acanthamoeba, Naegleria.

INTRODUCTION

Les amibes libres sont des protozoaires vivant habituellement libres dans le milieu extérieur (sol, eau, ...) et se nourrissent principalement de bactéries par phagocytose, et de matières organiques [1-6]. Certains genres sont pathogènes pour les usagers de l'eau : l'homme et les animaux [4].

Ce sont les *Naegleria* qui pénètrent par le nez lors des baignades en eau douce contaminée et sont responsables de méningo-encéphalites à issue rapidement fatale chez des sujets jeunes en bonne santé. Elles sont thermophiles et se retrouvent, dans les eaux réchauffées artificiellement ou naturellement [1, 4, 7, 8].

Les *Acanthamoeba* sont la cause d'encéphalites amibiennes granulomateuses, donnant des affections chroniques chez des sujets débilisés, et des kératites, généralement chez les porteurs de lentilles de contact [4, 7, 8]. Elles se retrouvent aussi bien dans la terre que dans les différentes collections d'eau.

A côté de ces deux genres principalement incriminés dans des affections humaines, bien d'autres amibes sont présentes dans l'eau comme *Balamuthia mandrillaris* [7].

L'étude des amibes libres a permis de situer l'habitat naturel de diverses espèces. Certaines amibes isolées se révèlent potentiellement pathogènes pour l'homme, d'autres peuvent servir de témoins de pollutions organiques liées à l'activité humaine ou animale [9].

Notre objectif est de rechercher les amibes libres susceptibles d'être pathogènes pour l'homme, dans les eaux douces provenant de différents endroits de la ville de Constantine et de ses environs, de prouver leur existence dans notre région afin de sensibiliser le corps médical sur l'existence possible de ces pathologies dites rares et encore peu connues en Algérie.

Pour cela, nous avons effectué 40 prélèvements d'eau provenant de piscines, puits, oueds, lacs, eau de robinets, eau de source et bassins que nous avons analysé au laboratoire de parasitologie et de mycologie du CHU de Constantine.

MATERIEL ET METHODES

1. Nature de l'échantillon

Du 13 septembre 2008 au 01 mai 2009, 40 prélèvements d'eau d'origines diverses de la région de Constantine (eau de réservoir, eau de robinet (12), piscines (03), Oueds (02), eaux de sources (04), puits (07), lacs (02) et bassins (10) ont été examinés pour la recherche d'amibes libres.

2. Conditions de prélèvement

- Nous avons effectué le prélèvement dans des flacons stériles [10] de 250 ml;
- A 50 cm au-dessous de la surface [10].

3. Traitement du prélèvement

Nous avons travaillé sous une hotte à flux laminaire, l'eau est filtrée à travers des filtres [10, 11, 12] de 1,2 μ de diamètre pour retenir les formes végétatives et les kystes et laisser passer les bactéries et les débris.

4. Mise en culture

- Pour cette étude, nous avons utilisé un milieu de culture à base de gélose à 2 % et une suspension de bactéries (*E.coli*) [4].

a) Préparation de la suspension d'*E.coli* :

- Utiliser un tube à essai en verre avec capuchon métallique à vis;
- Faire une suspension très légèrement opalescente dans 10ml de NaCl à 0.9%;
- Passer au Vortex;

- Placer au bain-Marie bouillant pendant 15 mn;
- Passer au Vortex à nouveau;
- Après refroidissement garder le tube à +4°C [11];
- Passer au vortex avant chaque utilisation;
- Pour *Naegleria fowleri*, nous utilisons des bactéries vivantes (on prépare une suspension de bactéries qui sera placée directement à +4°C sans passage par le bain-Marie).

b) Ensemencement

- Sur gélose nutritive préparée à 2% et coulée en boîte de pétri;
- Parallèlement, sortir du réfrigérateur la suspension d'*E. coli*;
- La ramener à la température ambiante, passer au vortex et en déposer une petite goutte au centre de la gélose nutritive [11];
- Après filtration de l'échantillon d'eau, le filtre est prélevé et retourné sur la gélose au contact des bactéries [11];
- La boîte est fermée avec du parafilm et mise dans l'étuve à 30°C [3,5, 8] et 37°C pour *Naegleria fowleri* [2,11], sans la tourner le premier jour. Les jours suivants, elle sera placée couvercle en bas pour que la condensation se fasse sur la gélose;
- L'observation de la gélose se fait directement au microscope optique à l'objectif $\times 10$ tous les jours [2, 12] la première semaine, puis tous les 04 jours pendant 03 semaines.

RESULTATS

- Sur les 40 échantillons d'eau analysés, 6 prélèvements sont positifs (15%) et 34 sont négatifs (85%);
- L'identification des amibes libres est basée sur des critères morphologiques [2]. La lecture se fait au microscope optique, objectif $\times 10$ [12], directement sur la boîte. En cas de prélèvement positif, nous faisons un étalement sur une lame à l'aide d'une pipette pasteur, et on examine au microscope au grossissement $\times 40$ [12].
- Les amibes libres étaient présentes dans les eaux qui provenaient des bassins (2 cas), puits (2 cas), oueds (1 cas) et source naturelle d'eau (1 cas), soit un total de 6 cas représentant 15% des prélèvements (figure 1).

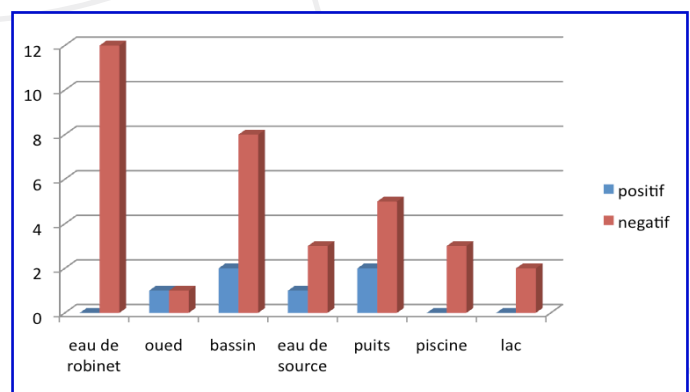


Figure 1. Origine des prélèvements positifs.

Au cours de cette étude, nous n'avons pas isolé *Naegleria* [4], seules des amibes du genre *Acanthamoeba* ont été trouvées (kyste d'*Acanthamoeba*) (figure 2).

DISCUSSION

Les résultats obtenus par cette étude donnent une preuve supplémentaire sur l'existence des amibes libres dans l'environnement. Ces résultats se rapprochent de ceux d'autres études réalisées dans le monde :

- En Pologne (1972), Kasprzak et Mazur ont montré la présence

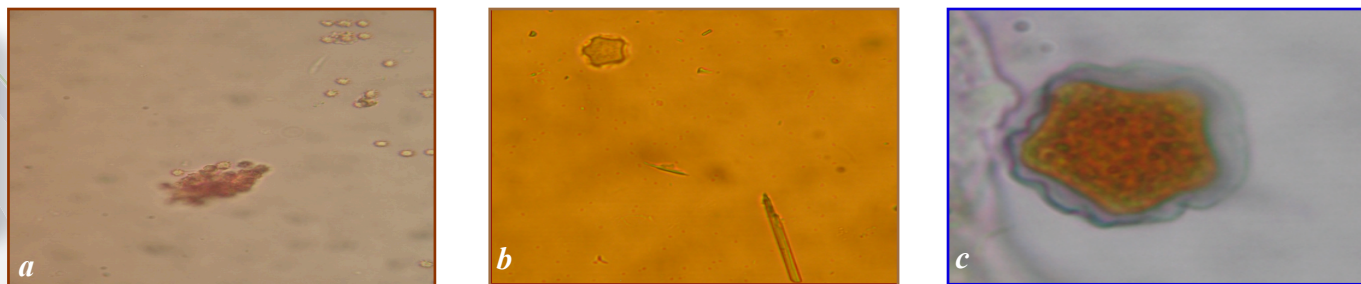


Figure 2. Kyste d'*Acanthamoeba*.
a(x10), b(x40) et c(x100 et coloré au lugol)

des amibes libres dans une vingtaine de lacs de Pologne ainsi que dans une rivière et un canal [6];

- En Australie en 1973 : 2 souches de *Naegleria fowleri* sont isolées dans 100 échantillons d'eau de piscines [6];
- En Nouvelle Zélande : Avril 1973 : isolement de souche (NZ17) de *Naegleria fowleri* d'une source thermique [6].

CONCLUSION

Les amibes libres sont des protozoaires vivant libres dans le milieu extérieur [4], certains genres sont pathogènes pour l'homme et peuvent provoquer des atteintes cérébrales et oculaires redoutables [8].

Du fait de l'augmentation de la prévalence des kératites amibiennes, provoquées par des amibes du genre *Acanthamoeba*, dans le monde entier et la résistance de plus en plus marquée de ces amibes au chlore utilisé pour désinfecter l'eau courante et celle des piscines, des études plus approfondies doivent être menées pour déterminer les souches pathogènes par utilisation des techniques de biologie moléculaire, principalement la PCR.

RÉFÉRENCES

1. Paugam A. Parasitoses et atteintes cérébrales, Revue Francophone Des Laboratoires - Février 2008; 399 : 41.
2. Ramirez E, Robles E, Martinez B. Free-living amoebae isolated from water-hyacinth root (*Eichhornia crassipes*), Experimental Parasitology. 2010; 126 : 42 – 44.
3. Mougeot G. Infections à protozoaires et environnement, Environnement et santé.
4. Trabelsi H, Dendana F, Sellami A, Sellami H, Cheikhrouhou F, Neji S, Makni F, Ayadi A. Pathogenic free-living amoebae : Epidemiology and clinical review, Pathologie Biologie. 2012; 60 : 399 – 405.
5. Sibille I. Stabilité biologique des réseaux de distribution d'eau potable, Année biologique. 1998; 78 : 117 – 161.
6. Jadin J.B. De la dispersion et du cycle des amibes libres, Ann. Soc. Belge Méd. Trop. 1974; 54, 4/5, 371- 385.
7. Hall W.A. Free-living Amoebae : Is It Safe to Go in the water ?, Perspectives.
8. Chapuis C, Gardes S, Tasseau F. Gestion des risques infectieux liés aux piscines et bains collectifs à usage médical, Annales de Réadaptation et de Médecine Physique.
9. Liang S.Y, Ji D.R, Hsia K, Hung T, C C, Sheng W.H, Hsu B, Chen J.S, Wu M.H, Lai C.H, Ji D.D. Isolation and identification of

Acanthamoeba species related to amoebic encephalitis and nonpathogenic free-living amoebae species from the rice field, Journal of Applied Microbiology. 1364 – 5072.

10. Chabasse D, Laine P, Simitzis-Le Flohic A.M, Martineau B, El Hourch M, & Becaude J.P. Etude parasitologique, mycologique, et physicochimique des eaux de surface et de la plage d'une base nautique et de loisirs. Médecine et Maladies Infectieuses 1985; 3 : 118-125.

11. Ripert C. *Amoeboses Entamoeba, Acanthamoeba, Balamuthia, Naegleria*, Epidémiologie des maladies parasitaires opportunistes – 2003; III: 137 -161.

12. Rivera F, Ramirez P, Vilaclara G, Robles E, Medina F. A survey of pathogenic and free-living Amoebae inhabiting swimming pool water in Mexico city, Environmental Parasitology. 2010; 126 : 42-44.