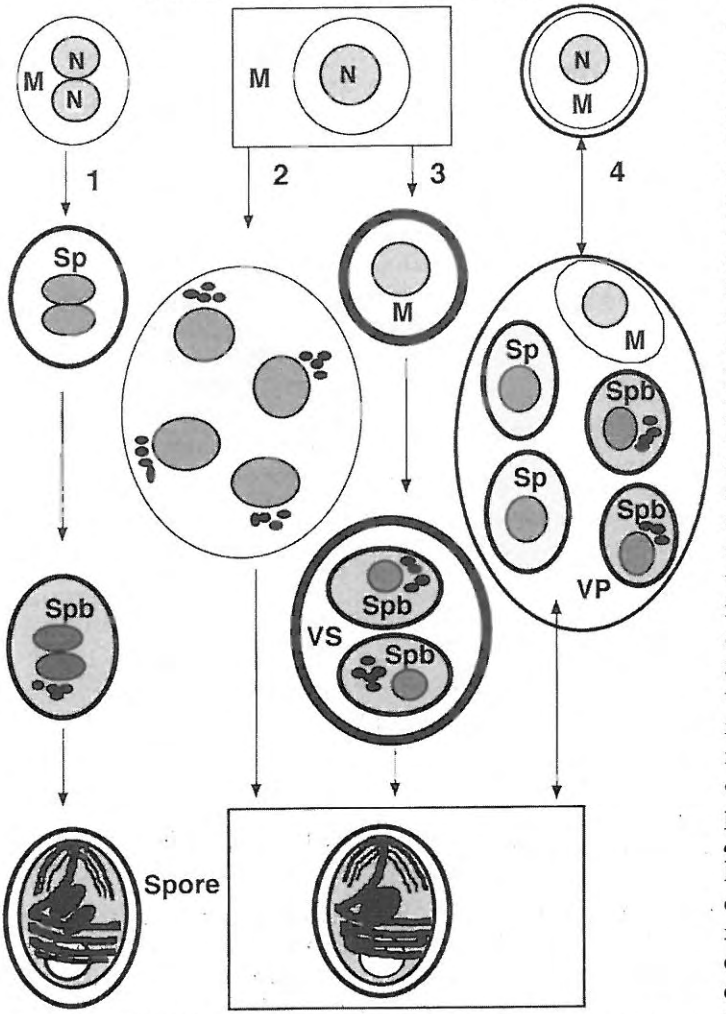
Figure 4.

Développement intracellulaire des microsporidies trouvées chez l'homme.
Intracellular development of microsporidia found in man.



Le méronte initial dicaryotique chez certaines espèces (1), monocaryotique chez les autres (2, 3, 4), est inclus dans une vacuole parasitophore chez les *Encephalitozoonidae* (4). Chez toutes, à l'exception d'*Enterocytozoon* (2), le début de la sporogonie est marqué par la sécrétion d'une paroi protéique présente à la surface des sporontes (Sp), des sporoblastes (Spb) et des spores (composante externe de la paroi = exospore). La structure de la spore est très conservée, les variations spécifiques portant surtout sur les dimensions et la longueur du tube polaire.

1. *Brachyola, Vittaforma, Nosema*: tous les stades sont dicaryotiques.
2. *Enterocytozoon*: les noyaux issus des divisions successives demeurent groupés dans un cytoplasme commun. La fragmentation en sporoblastes (non figurés ici) et la sécrétion de l'exospore s'effectuent après la formation des structures sporales (tubes polaires et annexes).
3. *Trachypleistophora*: la sporogonie a lieu dans une vacuole sporophore (VS) dont la paroi protéique est sécrétée à la surface du méronte (M). La VS ici figurée contient deux sporoblastes.
4. *Encephalitozoon*: la mérogonie et la sporogonie s'effectuent dans la même vacuole parasitophore (VP).

vache, la chèvre, le porc et le chien (4); les infections semblent être asymptomatiques chez ces différents animaux. On sait qu'*E. cuniculi* infecte les mammifères (8). L'espèce *E. hellem* enfin a été identifiée chez des oiseaux de volière tels que les perruches et les perroquets (3). La pathogénicité de ces deux dernières espèces est avérée dans les élevages. Plusieurs faits suggèrent que les insectes seraient le réservoir d'infections rares chez l'homme. TRAMMER qui obtint le développement de *Nosema algerae*, parasite de l'anophèle, chez des souris immunodéprimées par la cortisone et la cyclosporine, émit l'hypothèse selon laquelle cette espèce aurait causé un cas d'infection cornéenne chez l'homme, l'un des arguments invoqués étant la ressemblance de

N. algerae avec la microsporidie impliquée *(Nosema ocularum)* (37). Cette interprétation a été récemment confirmée par la mise en évidence de *N. algerae* dans la cornée d'un sujet mexicain immunocompétent qui présentait une atteinte oculaire (39). De même, l'analyse comparée de séquences codant une sous-unité de l'ARN polymerase II montre que *Trachypleistophora hominis* est très proche de *Vavraia culicis*, autre espèce parasite de diptère (Dorothée BOURGES, communication personnelle). Il ressort de ces différentes observations que les microsporidies de diptères causeraient des infections accidentelles chez l'homme.

Traitement

Plusieurs molécules (métronidazole, albendazole, fluoromethalone) ont montré leur efficacité dans le traitement des microsporidioses, à l'exception de celle causée par *Enterocytozoon bieneusi.* Des essais cliniques montrent la sensibilité de ce parasite à la fumagilline (31). Cette molécule et son dérivé le TNP 470 (9) sont utilisés aussi bien pour traiter les abeilles atteintes de nosématose que les saumons infectés par *Nucleospora salmonis*, espèce dont le développement rappelle celui d'*E. bieneusi.* La chute plus ou moins sévère des plaquettes chez les patients traités par la fumagilline nécessite de définir une posologie combinant la suppression de tels effets secondaires et l'élimination du parasite. Une étude récente rapporte un cas d'infection par *E. bieneusi* efficacement traité par le nitazoxanide (2).

Conclusion

Comme pour les autres microorganismes, l'évolution des connaissances sur les microsporidies a suivi les progrès de la technologie. Le microscope permit la détection de corpuscules nucléés dans les tissus d'insectes parasités et l'amélioration des examens apportée par l'objectif à immersion contribua à la mise en évidence du tube polaire dans la spore. À partir des années 60, la microscopie électronique apporta les informations sur le développement et les caractères cytologiques de ces protistes. De nouveaux outils comme les sondes immunologiques et les sondes nucléiques apportent des possibilités nouvelles en ce qui concerne le diagnostic, l'épidémiologie ou la phylogénie.

Chez l'homme comme chez l'animal, les microsporidies semblent peu pathogènes et la gravité des infections est surtout la conséquence d'une fragilisation des hôtes générée par la rupture de l'équilibre naturel: altération du système immunitaire, stress induit par le surpeuplement dans les élevages industriels. Bien que la microsporidiose intestinale ait pratiquement disparu dans les pays industrialisés depuis l'introduction des thérapies antirétrovirales (23), on ne peut conclure à l'éradication définitive de cette infection opportuniste. Le sida poursuit sa progression en Afrique et dans certains pays d'Asie (18). La microsporidiose intestinale affecte également les sujets non infectés par le VIH et nous savons qu'il existe des réservoirs symptomatiques ou asymptomatiques de cette parasitose dont la transmission est facilitée par les conditions sanitaires défectueuses. Les conflits qui ravagent diverses régions de la planète aggravent ou génèrent les facteurs favorisant la transmission et la pathogénicité des microsporidies: dégradation des conditions sanitaires et malnutrition induisant la fragilisation de l'organisme et notamment l'altération des défenses immunitaires.

Remerciements

Les informations relatives aux premières observations sur les microsporidies et les nosématoses d'insectes ont été puisées dans la précieuse documentation obligeamment communiquée par Jean THÉODORIDÈS qui nous a quittés trop tôt, au seuil de cette année 2000.

Références bibliographiques

1. BALBIANI EG - Sur les microsporidies ou psorospermies des Articulés. *C R Acad Sci*, Paris, 1882, **95**, 1168-1171.
2. BICART-SEE A, MASSIP P, LINAS MD & DATRY A - Successful treatment with nitazoxanide of *Enterocytozoon bieneusi* microsporidiosis in a patient with AIDS. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, **44**, 167-168.
3. BLACK SS, STEINHORT LA, BERTUCCI DC, ROGERS LB & DIDIER ES - *Encephalitozoon hellem* in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Vet Pathol*, 1997, **34**, 189-198.
4. BORNAY-LLINARES FJ, DA SILVA AJ, MOURA H, SCHWARTZ DA, VISVESVARA GS *et al.*- Immunologic, microscopic and molecular evidence of *Encephalitozoon (septata) intestinalis* infection in mammals other than humans. *J Infect Dis*, 1998, **178**, 820-826.
5. BRUMPT E - *Précis de Parasitologie*, Vol. I, 1949, Masson & Cie, Paris.
6. CALI A, TAKVORIAN PM, LEWIN S, RENDEL M, SIAN CS *et al.*- *Brachiola vesicularum*, n.g, n.sp., a new microsporidium associated with AIDS and myositis. *J Euk Microbiol*, 1998, **45**, 240-251.
7. CANNING EU - Phylum Microspora. *In*: CORLISS JO, MELKONIAN M & CHAPMAN DJ (EDS) - *Handbook of Protoctists*. Jones & Bartlett, Boston, 1990, 53-71.
8. CANNING EU & HOLLISTER WS - Microsporidia of mammals. Widespread pathogens or opportunistic curiosities? *Parasitology Today*, 1987, **3**, 267-273.
9. COYLE C, KENT M, TANOWITZ HB, WITTNER M & WEISS LM - TNP-470 is an effective antimicrosporidial agent. *J Infect Dis*, 1998, **177**, 515-518.
10. DEL AGUILA C, IZQUIERDO F, NAVAJAS R, PIENIAZEK NJ, MIRO G *et al.*- *Enterocytozoon bieneusi* in animals : rabbits and dogs as new hosts. *J Euk Microbiol*, 1999, **46**, 8S-9S.
11. DESPORTES I, LE CHARPENTIER Y, GALIAN A, BERNARD F, COCHAND-PRIOLLET B *et al.*- Occurrence of a new microsporidian: *Enterocytozoon bieneusi* n.g, n.sp. in the enterocytes of a human patient with AIDS. *J Protozool*, 1985, **32**, 250-254.
12. DESPORTES-LIVAGE I & BYLEN E - Microsporidia infection in HIV-negative subjects. *Acta Protozoologica*, 1998, **37**, 63-70.
13. DESPORTES-LIVAGE I, DOUMBO O, PICHARD E, HILMARSDOTTIR I, TRAORE H *et al.*- Microsporidiosis in HIV-seronegative patients in Mali. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 1998, **92**, 423-424.
14. DIDIER ES, DIDIER PJ, FRIEDBERG DN, STENSON SM, ORENSTEIN JM *et al.*- Isolation and characterization of a new human microsporidian *Encephalitozoon hellem*, n. sp. from three AIDS patients with keratoconjunctivitis. *J Infect Dis*, 1991, **163**, 617-621.
15. DIDIER ES, WARNER PW, DIDIER PJ, ALDRAS AM, MILLICHAMP NJ *et al.*- Experimental microsporidiosis in immunocompetent and immunodeficient mice and monkeys. *Folia Parasitologica*, 1994, **41**, 1-11.
16. DOWD SE, GERBA CP & PEPPER IL - Confirmation of the human-pathogenic microsporidia *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis* and *Vittaforma corneae* in water. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**, 3332-3335.
17. EETINCK-SCHATTENKERK JKM, VAN GOOL T, VAN DEN BERGH WEERMAN M, SHOT LJ & DANKERT J - Chronic rhinosinusitis in HIV-infected patients with microsporidiosis. *AIDS*, 1993, **7** (Suppl. 3), S36-S37.
18. ESSEX M - Human immunodeficiency viruses in the developing world. *Adv Virus Res*, 1999, **53**, 71-88.
19. FANTHAM HB & PORTER A - Microsporidiosis, a protozoal disease of bees due to *Nosema apis*, and popularly known as "Isle of Wight" disease. *Ann Trop Med Parasitol*, 1912, **6**, 145-161.
20. FANTHAM HB & PORTER A - The dissemination of *Nosema apis*. *Ann Trop Med Parasitol*, 1912, **6**, 197-214.
21. FOISSNER I & FOISSNER W - *Ciliatosporidium platyophryae* nov. gen, nov. spec. (Microspora *incertae sedis*), a parasite of *Platyophrya terricola* (Ciliophora, Colpodea). *Eur J Protistol*, 1995, **31**, 248-259.
22. GAINZERAIN JC, CANUT A, LOZANO M, LABORA A, CARRERAS F *et al.*- Detection of *Enterocytozoon bieneusi* in two human immunodeficiency virus negative patients with diarrhea by polymerase chain reaction in duodenal biopsy specimens and review. *Clin infect Dis*, 1998, **27**, 394-398.
23. GOGUEL J, KATLAMA C, SARFATI C, MASLO C, LEPORT L & MOLINA JM - Remission of AIDS-associated intestinal microsporidiosis with highly active antiretroviral therapy. *AIDS*, 1997, **11**, 1603-1610.

24. HARTSKEERL RA, VAN GOOL T, SCHUITEMA AR, DIDIER ES & TERPSTRA WJ - Genetic and immunological characterization of the microsporidian *Septata intestinalis* Cali, Kotler and Orenstein, 1993: reclassification to *Encephalitozoon intestinalis*. *Parasitology*, 1995, **110**, 277-285.
25. HOLLISTER WS, CANNING EU, WEIDNER E, FIELD AS, KENCH J & MARRIOTT DJ - Development and ultrastructure of *Trachipleistophora hominis* n.g. n.sp. after *in vitro* isolation from an AIDS patient and inoculation into athymic mice. *Parasitol*, 1996, **112**, 143-154.
26. KOTLER DP & ORENSTEIN JM - Clinical syndromes associated with microsporidiosis. *Adv Parasitol*, 1998, **40**,321-349.
27. LARSSON JIR - Identification of Microsporidia. *Acta Protozool*, 1999, **38**, 161-197.
28. LORES B, RIAS C, FENOY S, IGLESIAS I, OCAMPO A *et al.*- *Enterocytozoon bieneusi* : a common opportunistic parasite in lungs of HIV-positive patients? *J Euk Microbiol*, 1999, **46**, 6S-7S.
29. MAIGA I, DOUMBO O, DEMBELE M, TRAORE H, DESPORTES-LIVAGE I *et al.*- Microsporidiose intestinale humaine à Bamako (Mali) : présence d'*Enterocytozoon bieneusi* chez les patients séropositifs pour le VIH. *Cahiers Santé*, 1997, **7**, 257-262.
30. MERTENS RB, DIDIER ES, FISHBEIN MC, BERTUCCI DC, ROGERS LB & ORENSTEIN JM - *Encephalitozoon cuniculi* microsporidiosis: infection of the brain, heart, kidneys, trachea, adrenal glands and urinary bladder in a patient with AIDS. *Mod Pathol*, 1997, **10**, 68-77.
31. MOLINA JM, GOGUEL J, SARFATI C, CHASTANG C, DESPORTES-LIVAGE I *et al.*- Potential efficacy of fumagillin in intestinal microsporidiosis due to *Enterocytozoon bieneusi* in patients with HIV infection: results of a drug screening study. *AIDS*, 1997, **11**, 1603-1610.
32. ORENSTEIN JM, GAETZ HP, YACHNIS AT, FRANKEL S, MERTENS RB & DIDIER ES - Disseminated microsporidiosis in AIDS: are any organs spared? *AIDS*, 1997, **11**, 385-386.
33. SCHWARTZ DA, VISVESVARA GS, WEBER R & BRYAN T - Male genital tract microsporidiosis and AIDS: prostatic abcess due to *Encephalitozoon hellem*. *J Euk Microbiol*, 1994, **41**, 61S.
34. SILVEIRA H & CANNING EU - *Vittaforma corneae* N. Comb. for the human microsporidium *Nosema corneum* Shadduck, Meccoli, Davis & Font, 1990, based on its ultrastructure in the liver of experimentally infected athymic mice. *J Euk Microbiol*, 1995, **42**, 158-165.
35. STEINHAUS EA - *Principles of insect pathology*. 1949, MacGraw-Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London.
36. THELOHAN P - Sur la présence d'une capsule à filament dans les spores des microsporidies. *C R Acad Sci*, Paris, 1894, **118**, 1425-1427.
37. TRAMMER T, DOMBROWSKI F, DOEHRING M, MAIER WA & SEITZ HM - Opportunistic properties of *Nosema algerae* (Microspora), a mosquito parasite, in immunocompromised mice. *J Euk Microbiol*, 1997, **44**, 258-262.
38. VAVRA J, YACHNIS AT, SHADDUCK JA & ORENSTEIN JM - Microsporidia of the genus *Trachypleistophora* - causative agents of human microsporidiosis: description of *Trachypleistophora anthropophthera* n. sp. (Protozoa: Microsporidia). *J Euk Microbiol*, 1998, **45**, 273-283.
39. VISVESVARA GS, BELLOSO M, MOURA H, DA SILVA AJ, MOURA INS *et al.*- Isolation of *Nosema algerae* from the cornea of an immunocompetent patient. *J Euk Microbiol*, 1999, **46**, 10S.
40. WEISS LM & VOSSBRINCK CR - Microsporidiosis: molecular and diagnostic aspects. *Adv Parasitol*, 1998, **40**, 351-395.

Intervention en séance

C. Chastel :
Vous nous avez dit que l'on avait, au début, considéré les microsporidies comme des micro-organismes primitifs. En fait, ils auraient évolué à partir des champignons. Il y a une autre classe de micro-organismes considérés aussi comme "primitifs", les mycoplasmes, qui eux aussi ont subi une évolution régressive, à partir de bactéries gram positif et clostridies.

I. Desportes :
L'évolution régressive est sûrement un phénomène général. Chez les microsporidies, la perte des mitochondries serait liée au fait que ces protistes utilisent celles des cellules dans lesquelles ils se développent. Elle manifeste donc un haut degré de spécialisation dans le parasitisme, au même titre que le filament sporal qui assure l'inoculation des ces parasites dans une cellule hôte.

Intervention anonyme :
Je veux rappeler que c'est avec Nosema bombycis *qu'a été démontrée la transmission verticale d'un parasite, d'une femelle à sa descendance, par infection des ovules. Sur cette observation, PASTEUR a établi la méthode prophylactique de la nosémose, connue sous le nom de "grainage cellulaire" : la femelle du bombyx pond ses œufs ("graines") dans une cellule de gaze ; après la ponte, la femelle est examinée au microscope, après avoir été écrasée : les œufs ne sont mis en incubation que si l'examen de la pondeuse ne révèle pas la présence de spores de*

Arch. Inst. Pasteur Paris, fonds Brumpt

De gauche à droite : Cécile BRUMPT, Peter SARGEAUNT, Trixie SARGEAUNT et Lucien BRUMPT à Berthenonville en août 1995.

The establishment of the species *Entamoeba dispar.*

P. G. Sargeaunt (1), J. C. Petithory (2) & F. Ardoin-Guidon (2)
(1) London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom.
(2) Qualité en Parasitologie, Centre Hospitalier, 95500 Gonesse, France.

Mots-clés : Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, *découverte, reconnaissance*
Key-words: Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, *discovery, establishment*

Résumé : **La reconnaissance de l'espèce *Entamoeba dispar.***

Le 3 novembre 1925, à l'Académie nationale de médecine, Emile Brumpt, *se basant sur des données épidémiologiques et cliniques humaines, ainsi que sur des études expérimentales chez de jeunes chats, décrivit une nouvelle espèce,* Entamoeba dispar, *non pathogène, espèce différente et non pas élément du complexe* Entamoeba histolytica. *Il prononça une conférence à la "Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene" à Londres, en 1928, qui fut accueillie avec beaucoup de réserves, en particulier par* Yorke W., Duke L., Thompson J.G. *et* Wenyon C.M. *La conclusion d'Emile* Brumpt *fut:* "Je peux affirmer que dans de nombreux pays tempérés il existe un fort pourcentage d'individus porteurs de kystes quadrinucléés. Ils ne sont pas dangereux pour ces porteurs, qui n'ont pas à craindre de complications hépatiques, et pour eux un traitement intensif n'est pas nécessaire. Cependant de nombreuses autres recherches doivent être faites, cela complique le travail des cliniciens et des scientifiques, mais nous savons que la science est difficile, et que la route pour atteindre la vérité est longue".

À la Société de pathologie exotique, le 9 juin 1926, Emile Brumpt *avait fait une communication "Individualité de l'*Entamoeba dispar, *présentation de pièces (4)."* Mesnil *y fit le commentaire suivant:* "Les faits statistiques qu'invoque notre collègue Brumpt à l'appui de sa thèse peuvent, je crois, s'interpréter autrement en faisant intervenir un rôle favorisant de la flore intestinale dans la dysenterie amibienne. Celle-ci a sévi à l'état épidémique, pendant la guerre, tant sur le front occidental qu'en Macédoine. Il est incontestable que de nombreux porteurs de kystes se sont ainsi trouvés disséminés en France, en Angleterre, etc. S'ils n'ont pas été, sauf exception rare, le point de départ de nouveaux cas de dysenterie amibienne, comme ils l'auraient été dans les pays chauds, on peut penser que c'est en raison de la disparition de la flore intestinale qui accompagnait l'amibe et passait facilement avec elle d'individu à individu dans les conditions de promiscuité du front. L'amibe, ainsi conservée chez des porteurs sains, n'en est pas moins, de par son origine, une *Ent. dysenteriae,* et elle se comporte pourtant comme une *Ent. dispar*".

E. Brumpt *répondit:* "Je crois que la flore microbienne intestinale peut favoriser le rôle pathogène de l'amibe dysentérique vraie chez des porteurs sains ou convalescents et j'admets que cette flore intestinale se rencontre plus fréquemment sous les tropiques ou dans les régions tempérées chez des individus en état de moindre résistance. Mais, à mon avis, la flore intestinale n'a aucune action sur l'*Entamoeba dispar.* Si cette flore intestinale pouvait permettre la transformation de ce que je nomme *E. dispar* en *E. dysenteriae,* on ne comprendrait pas l'extrême rareté de la dysenterie amibienne dans des régions tropicales, comme le Brésil méridional par exemple, où se rencontrent de nombreux porteurs de kystes à quatre noyaux venus d'Europe. En ce qui concerne la rareté relative de la dysenterie amibienne en France depuis la fin de la grande guerre, je crois qu'il est facile d'expliquer ce phénomène par le retour à une vie normale et une considérable diminution du péril fécal.

Dans le cas de dysenterie dite autochtone, je crois qu'il serait toujours possible de retrouver la contagion par un porteur d'*E. dysenteriae,* autochtone et plus souvent encore étranger venant d'une région où la dysenterie est très commune".

Le rôle de la flore microbienne associée était né. Les deux opposants à la découverte d'Emile Brumpt *continuèrent leurs actions,* Mesnil *en France,* Wenyon *en Angleterre, qui dédia son livre à* Mesnil. *Emile* Brumpt *se vit refuser l'accès à l'Académie des Sciences, en raison d'*Entamoeba dispar. *Des masses de travaux, sur l'amibiase, furent pendant des années publiés, ignorant* Entamoeba dispar, *à l'exception*

de la publication de Lucien BRUMPT *et Ho Thi* SANG, *en 1961 (6), qui écrivaient: "l'avirulence est un caractère fixe irréversible quels que soient les artifices mis en œuvre, ces notions expérimentales s'accordent avec l'absence d'hématophagie, la clinique et l'épidémiologie de l'amibiase."*

Il fallut plus de 50 ans après la publication d'Emile BRUMPT, *en 1925 (3), pour que* SARGEAUNT, *en 1978 (21), apporte la preuve irréfutable qu'il y avait bien deux espèces différentes dans ce qui était communément appelé* Entamoeba histolytica.

Les travaux de SARGEAUNT *étaient basés sur le mariage de deux sciences, la bactériologie et la biochimie. Ils consistaient à cultiver des selles contenant des kystes pour obtenir des trophozoïtes, qui étaient alors récoltés et déposés sur une mince couche de gel d'amidon pour électrophorèse. Utilisant quatre systèmes enzymatiques, il fut constaté que chaque souche d'amibe montrait un profil distinct. En particulier, l'étude de milliers d'isolats montra que les bandes d'izoenzymes pour* E. histolytica *et* E. dispar *donnaient toujours des résultats nets et reproductibles, directement en relation avec l'état de maladie de l'hôte.*

Après les premières publications de SARGEAUNT, *un grand nombre de travaux vinrent confirmer ces résultats, à une exception, ceux de* MIRELMAN *qui tentait encore de montrer le rôle de "la flore bactérienne associée" (14) ! Mais* SARGEAUNT *prouva alors qu'il s'agissait d'une erreur liée à la contamination des cultures d'amibes par plusieurs espèces. Six publications majeures montrèrent de manière incontestable la différence entre l'espèce* E. dispar *non pathogène et* E. histolytica *pathogène (tableau I). Pourtant encore, en 1994, en France, une étude de synthèse (15) "suscita une polémique".*

L'existence des deux espèces devint largement acceptée et l'O.M.S. fit une déclaration formelle en ce sens en 1997 (25). Comme cela avait été écrit par E. BRUMPT *il y a 70 ans et réitéré par* SARGEAUNT, *il n'est pas utile de traiter les infestations dues à* E. dispar, *ce fait est maintenant aussi accepté par l'O.M.S. Mais avant l'emploi des N-imidazoles pour traiter les malades amibiens, l'émétine avec ses dangereuses complications était employée: combien de patients ont eu à souffrir alors qu'ils n'hébergeaient qu'*E. dispar *?*

Nous savons maintenant que chaque point développé il y a 70 ans par Emile BRUMPT *était totalement vrai et c'est ce que nous devons enseigner à nos étudiants.*

Summary:

The third of november 1925, at the French National Académie de Médecine, Emile BRUMPT, *on the basis of epidemiologic and clinical data in men and on experimental studies in kitten, described a new species,* Entamoeba dispar, *that did not cause disease and was a separate species and not part of an* Entamoeba histolytica *complex. His well founded arguments for* E. dispar *was discounted by parasitologists, particularly by* MESNIL *in France and* WENYON *in The United Kingdom. No important experimental research to prove or disprove* BRUMPT's *idea was undertaken for approximately fifty years. However, in 1978,* SARGEAUNT *began to demonstrate, by thin layer starch gel electrophoresis, that in fact* E. dispar *was irrefutably a distinct species.* SARGEAUNT *also met resistance to* E. dispar *as a species, particularly from workers in the United States of America. However, eventually* E. dispar *became widely accepted and, in 1997 (over 70 years since* BRUMPT's *publication), W.H.O. issued a formal declaration that* E. dispar *and* E. histolytica *were separate species.*

Emile BRUMPT was the progenitor separating *Entamoeba histolytica* from other species, particularly from what he labelled *E. dispar*. His first most important paper on this subject was published in 1925 (3). Unfortunately, like Prometheus he was subsequently chained not by Zeus but by his peers, as if he had stolen from life.

Emile BRUMPT read a paper at the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene in London in 1928 (5). It is worth repeating his first five paragraphs.

"English authors having been the first to demonstrate the frequency of occurrence of four-nucleated cysts of Entamoeba *in individuals who have never been in tropical countries, it is a great*

cysts is not sufficient to determine with certainty a species of amoeba, it is necessary to study with great care all morphological characters during its evolution and, if this is not sufficient, all its biological characters".

Regrettably none of the eminent parasitologists attending that meeting gave Emile BRUMPT's hypothesis their full support. Professor Warrington YORKE in the following discussion of Emile BRUMPT's paper gave no positive example of any experiments he himself had carried out to substantiate or deny Emile BRUMPT's proposals as to the presence of *E. histolytica* and *E. dispar*. YORKE's final conclusion was *"caution should be exercised in interpreting Professor BRUMPT's experiments". "For his own part (i.e . YORKE) he preferred to remain in this matter a unitarian".*

Dr. H. Lyndhurst DUKE endeavoured to approach Emile BRUMPT's hypothesis by comparison with the situation pertaining at that time with the African trypanosomes. DUKE's concluding remarks were as follows - *"He would put it as a pure hypothesis and suppose that there was only one species of amoeba-a polymorphic species, widely distributed, which varied in its physiological attributes-known as* E. dysenteriae. *This parasite was a parasite of man, well adapted to him, but with the degree of adaptation differing in different circumstances. Occasionally, this adaptation to man broke down, resulting in dysentery. He did not know whether that appealed to those present as a sensible proposition, but it seemed to him the closest parallel he had ever met to the line of suggestion which they had been putting up lately in Uganda about the trypanosomes; and other parasitic protozoa were presumably governed by similar factors".*

Dr. J.G. THOMPSON remarked that there were three "specially important" points to be considered. Firstly, transmission from host to host thus raising virulence. Secondly, the dose of cysts ingested. Lastly, the bacteria flora present in the gut. He gave no conclusion.

Dr. C.M. WENYON said that *"BRUMPT's paper turned on two questions,* E. histolytica *and* E. dispar. *With regard to the two larger forms, Professor BRUMPT's view if adopted would introduce clinical difficulties. On receiving a laboratory report that four-nucleated cysts of the* histolytica *type were present in the patient's faeces the physician at once proceeded to inject emetine, but with Professor BRUMPT's theory put into practice, when four-nucleated cysts of the* histolytica *type were reported the clinician would have first to ask "It this* E. dispar *or* E. histolytica *?". If E. dispar the patient should be left alone, if* E. histolytica *he should be given emetine, and the only way in which the matter could be settled was to inject these cysts into the rectum of a kitten, closing the anus with collodion, and waiting for a few days to see whether the animal developed true dysentery or not. That unfortunate position was parallel to that which confronted the bacteriologist and the clinician at the present time with regard to the treatment of cases of diphtheria. From the practical point of view the unresolved question, as to whether there were two distinct species or not, did introduce tremendous difficulties in treating cases".*

Finally, WENYON said *"With regard to the general principle of the tests, he had always viewed with great prejudice the pathological or pathogenic differentiation of species. A species had always represented to his mind a morphological idea, but he thought a consistent*

honour for me to be allowed to express before the members of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene my personal views concerning the identification of human amoebae, and I thank you greatly for your kind invitation.

Following the researches of YORKE, CARTER, MACKINNON, MATTHEWS *and* SMITH *in Liverpool, in 1917, numerous authors have had the opportunity of demonstrating the great frequency of cysts in America, France, Germany, Holland, and other temperate or tropical countries. These cysts, which measure from 5 μ to 20 μ in diameter, were considered as identical with those of the real* E. dysenteriae, *discovered by* QUINCKE *and* ROOS *in 1893, and then by* HÜBER *in 1903; and it is upon this identification, rather hasty, that all writers have published their coprological statistics. It has thus been established that, in England, at least 5 per cent of the whole population harbours* E. dysenteriae, *and that, in other countries where similar researches have been made, the percentage varies between four and thirty according to the number of examinations made on the same individual. These statistics demonstrate this very peculiar fact, that four-nucleated cysts are encountered nearly as often in countries where amoebic dysentery is unknown as in those where it is extensive, and this indicates that there are great variations between the number of healthy carriers and sick people.*

Now, though the clinical observations of MARTINI *(1908), H.* VINCENT, NOC *(1909) and the experiments of* WALKER *and* SELLARDS *on man (1913) and those of* WENYON *and* O'CONNOR *(1917) on the cat, have demonstrated the existence of cyst carriers who do not present any clinical symptoms, it has yet to be explained why amoebae are pathogenic for man in one of four persons in the Philippines, and in one of ten or twenty in various parts of Macedonia, Morocco, Senegal, India and Indo-China; while in England, France and Holland, where there exist millions of cyst spreaders, a few cases occur each year, and amongst these cases contagion by exotic carriers is often easily demonstrated. In studying the frequency of liver abscess, a complication which occurred before the systematic use of emetine in 14 or 15 per cent, of dysenteric individuals, the same discrepancy has been observed.*

Those are facts I would like to explain very simply. In our estimation most statistics have been established on a false basis; nearly all authors have considered all four-nucleated cysts as belonging to *E. dysenteriae,* though those cysts are produced by three different entamoeba: *E. dispar, E. hartmanni, E. dysenteriae.* Moreover, biometric diagrams, established by measuring cysts passed by carriers, showed the first observers that there were at least two types of cysts, some measuring 5 μ to 10 μ with an average of 6 μ to 8 μ, the others measuring 10 μ to 20 μ with an average of 12 μ to 14 μ. Sometimes one type occurs alone in a given individual, at other times both types are associated. *Since cysts of intestinal protozoa present great variation of diameter for a given species, it has generally been concluded that these various cysts belong to* E. dysenteriae. *Nevertheless, owing to the relative constancy of dimensions in certain individuals, some authors have admitted that these were different races having the same biologic characters and, consequently, the same pathogenic action, and only recognisable by their size. But morphological study of*