

**CANDIDOSE EXPÉRIMENTALE CHEZ LA SOURIS  
PAR INJECTION INTRAPÉRITONÉALE AVEC MUCINE  
INFLUENCE DU SEXE**

Par M. ANSEL et C. GAUTHIER

Dans l'étude du pouvoir pathogène de *Candida albicans* ou dans l'étude du pouvoir, soit fungicide, soit fungistatique, de substances utilisées contre cette espèce, il est classique d'employer le lapin. Celui-ci a la réputation d'être l'animal de choix, parce qu'il fait à coup sûr une infection générale si on lui inocule par voie intraveineuse des suspensions de *Candida* à 1 % ou 1‰. Le lapin étant toutefois très onéreux, nous avons utilisé un animal bien moins cher et bien plus prolifique encore, la souris, en cherchant une méthode plus facile que l'injection intraveineuse, mais en même temps tout aussi sûre et capable de donner des infections constantes et importantes. A cet effet, nous basant sur une méthode déjà employée par les bactériologistes, nous avons fait des injections par voies autres que l'intraveineuse de suspensions de *Candida*, auxquelles nous avons adjoint une suspension de mucine.

**Contrôle préliminaire**

La mucine employée provient d'un mucus gastro-intestinal. Elle se présente sous forme d'une poudre jaune-chamois et se trouve vendue en cachets dans le commerce pharmaceutique. Les dilutions de *Candida albicans* utilisées ont été faites au taux de 1 %, soit un centigramme de culture fraîche pour 1 cm<sup>3</sup> de sérum physiologique ; à cette suspension étaient adjoints cinq centigrammes de mucine.

Préalablement à l'usage de cette double suspension mucine-*Candida*, nous avons pratiqué sur un lot de souris des injections de suspension de mucine seule, afin de savoir si celle-ci n'était pas capable de déclencher par elle-même des infections. Nous n'avons observé, chez ces souris, ni à l'examen clinique, ni après dissection, aucune infection. En conséquence, nous pouvons être assurés que la suspension de mucine seule :

1° ne comportait aucun germe susceptible de déterminer une infection particulière ;

2° ne pouvait exalter la virulence de germes existant préalablement chez l'animal, soit saprophytes banaux, soit déterminant des infections latentes.

Il est donc permis de prévoir que toute infection déclenchée sera due, sous réserve de contrôle, au seul *Candida albicans*.

#### Effets des diverses voies d'inoculation Vieille souche de *Candida albicans*

Avec une seringue à tuberculine, nous avons injecté, dans une première série d'expériences, 1/4 de cm<sup>3</sup> de la solution précédemment indiquée. Les *Candida albicans* ont été prélevés sur la culture fraîche d'une souche conservée au laboratoire depuis plus de dix ans, par repiquages successifs, donc une vieille souche.

1) La voie sous-cutanée n'a donné lieu à aucune manifestation clinique particulière au point de vue général. Un mois après, les souris étant sacrifiées, on ne peut, à la dissection, noter aucune lésion interne. L'injection a seulement provoqué un abcès qui s'est ouvert spontanément à la peau. Mais ces abcès ne s'étaient pas guéris : ils continuaient à donner des suppurations locales. Peut-être eût-il fallu attendre plus longtemps pour constater une évacuation totale et un assèchement définitif de la collection. Ce que, en définitive, il était intéressant d'observer, c'est que la voie sous-cutanée n'avait pas permis d'obtenir une seule infection généralisée.

2) L'inoculation intramusculaire d'1/4 de cm<sup>3</sup> de la même suspension de *Candida albicans* a entraîné chez les animaux une gêne considérable ; dans les jours suivants, les cuisses étaient raides, mais il n'y a rien à cela d'extraordinaire, quand on pense à la quantité relativement énorme du volume injecté par rapport à la cuisse. Néanmoins, l'état général reste bon et l'une des souris met bas, 28 jours après, des petits parfaitement normaux. Dès le 25<sup>e</sup> jour après l'inoculation, un animal était néanmoins sacrifié. Aucun organe ne présentait de lésions ; seule, la cuisse injectée présentait une tuméfaction blanchâtre de la taille d'un petit pois. La ponction aseptique de cette tuméfaction montra un pus crémeux qui,ensemencé, a donné une très belle culture de *Candida albicans*. Une autre souris, celle qui fut sacrifiée le plus loin possible après l'inoculation, c'est-à-dire cinq mois après, ne présentait plus, par contre, aucune lésion, et même l'examen minutieux de la cuisse injectée ne permit pas de retrouver trace d'une collection initiale.

Les inoculations intramusculaires ne donnent donc lieu à aucune généralisation de l'infection et, de plus, la collection infectieuse initiale tend à se résorber et à se cicatricer complètement.

3) L'inoculation intrapéritonéale nous a permis d'obtenir une infection généralisée et fatale. De 16 à 25 jours après l'inoculation, toutes les souris sont mortes. La dissection montre avant tout des reins fortement hypertrophiés avec abcès superficiels, un mésentère criblé de ganglions, la rate hypertrophiée, les poumons congestionnés. L'examen extemporané montre des *Candida* sous forme de levures et de filaments.

#### Méthode de contrôle rapide de l'infection

Pour s'assurer que l'infection observée est bien due à des *Candida*, deux démarches nous ont paru utiles à réaliser : d'une part, la constatation des *Candida* dans les lésions observées ; d'autre part, l'obtention de cultures de *Candida* à partir de ces lésions. En fait, l'une ou l'autre est suffisante, particulièrement la première ; mais, en cas de lésions discrètes, où même l'examen direct peut ne pas révéler l'agent pathogène et ne permet pas d'en voir d'autres, il est nécessaire de faire une culture qui permet de retrouver le germe initial.

1) La mise en évidence des *Candida* a été obtenue de deux façons :

a) L'examen histologique de coupes d'organes. Après fixation au Bouin-Hollande, nous avons pratiqué la coloration au Dominici qui est suffisante et permet d'avoir une bonne interprétation des lésions.

Nous pensons que pour ce genre de travail la coloration de Hotchkiss est inutilement compliquée.

b) L'examen de frottis par apposition de tranches d'organes. Cette méthode nous a paru la plus simple et la plus rapide. Sur une même lame parfaitement dégraissée, il est possible de faire une douzaine d'appositions d'un rein, par exemple (pour les souris). Après dessiccation rapide à l'air, nous pratiquons la coloration de May-Grünwald-Giemsa. Cette méthode très rapide permet de faire de nombreux examens qui suppléent au léger risque de laisser des éléments pathogènes dans l'organe apposé. Mais elle donne un aspect admirable aux formes levures ou filamenteuses du parasite.

2) La culture doit être faite avec un fragment d'organe écrasé ou avec un liquide prélevé par ponction. On procède ensuite à l'examen direct et aux épreuves habituelles de détermination du *Candida*.

**Inoculation à des sexes différents**

Au cours de cette seconde série d'expériences, nous avons utilisé une souche de *Candida albicans* récemment isolée d'un cas de Perleche. Cette souche nous a été donnée à l'Hôpital Saint-Louis, dans le service du Professeur de Graciansky, que nous remercions ici bien vivement.

Il fut injecté à chaque souris  $1/4$  de  $\text{cm}^3$  de la suspension à 1 % de *Candida* avec 5 % de mucine. Les injections ont été faites uniquement par voie intrapéritonéale. Cette souche de pouvoir pathogène récent fut inoculée successivement à deux lots de souris : des mâles d'une part, des femelles d'autre part.

*Les souris mâles* sont toutes mortes entre 3 et 5 jours après l'inoculation. L'autopsie a montré chez toutes des reins hypertrophiés, criblés de petits abcès corticaux plus ou moins translucides ou jaunâtres ; la rate était généralement hypertrophiée et il y avait de nombreux ganglions mésentériques. Chez une souris, le poumon était parsemé de petits abcès et le foie blanchâtre. Le cerveau, extérieurement, ne montrait rien.

Après section des organes au rasoir, nous avons pratiqué des frottis par apposition et coloré au May-Grünwald-Giemsa. Chez toutes, nous avons pu constater dans les organes la présence de *Candida* ; mais le rein représentait toujours l'organe électivement le plus atteint, et puis ensuite le cerveau. Dans ces deux organes, le *Candida albicans* se présentait sous forme levures et sous forme filamenteuse. Le parasite est coloré en bleu, alors que les noyaux des cellules des organes sont violacés. Le centre nucléaire des levures apparaît très nettement. Certaines cellules levuriformes sont plus grandes que d'autres, avec une forte capsule, et présentent l'aspect de chlamydo-spores. En conclusion, toutes ces souris mâles ont présenté une infection généralisée intense à évolution rapide ; la mise en évidence du parasite est facile et nette.

*Les souris femelles.* — Chez les animaux de ce sexe, l'injection intrapéritonéale déclenche constamment une infection, mais celle-ci a une évolution plus lente, n'aboutit que quelquefois à la mort et peut passer à la chronicité.

Alors que les mâles sont tous morts entre trois et cinq jours, la mort la plus précoce ne s'est montrée chez les femelles que 17 jours après l'inoculation. Cette souris présentait alors des reins inégalement hypertrophiés avec des abcès blanchâtres à leur surface (alors qu'ils sont jaunes et translucides dans les abcès des infections aiguës des mâles). Les frottis montraient seulement des formes

levures, petites, de 2 à 3  $\mu$ , intermédiaires entre des cocci et les formes levures habituelles ; de plus, elles étaient de coloration rougeâtre au lieu du bleu franc des formes florides.

A côté de ce type à évolution fatale, nous avons constaté un autre type d'évolution plus chronique encore. Un mois après l'inoculation, une femelle présentait des troubles d'agitation prédominant à la tête : celle-ci était spasmodiquement rejetée en arrière. Sacrifiée 50 jours après l'inoculation, cette souris présentait dans ses reins des formes levures qui, plus grandes que dans le cas précédent, mesuraient en moyenne de 3 à 4  $\mu$ , et seulement quelques ébauches très grêles de filaments. Il était malheureusement impossible de mettre en évidence des levures dans les frottis du cerveau.

Le type le plus chronique peut être représenté par une souris que nous avons conservée jusqu'à quatre mois après l'inoculation. Cette bête présentait aussi, quoique à un degré moindre, cette agitation de la tête qui se renversait en arrière. Ces mouvements s'exagérèrent au cours de la narcose à l'éther que subit l'animal pour être sacrifié. La dissection a montré un rein gauche hypertrophié avec un cortex apparemment normal sans abcès, mais le rein droit était transformé en une énorme masse kystique de 2 cm. de long sur 1 cm. de large, translucide, où ne subsistait plus, en surface, qu'un tout petit îlot de parenchyme, grand comme une toute petite lentille. Le cerveau paraissait normal, ainsi que le cervelet ; mais, aucun frottis, ni de cerveau, ni de cervelet, ni de rate, ni de poumon, qui pourtant était congestionné, ne nous ont permis de retrouver de formes levures. Seule, la ponction du rein, transformé en kyste, nous a donné un liquide trouble qui, mis en tube de Sabouraud, a permis d'obtenir d'abondantes cultures pures de *Candida albicans*.

En définitive, les inoculations intrapéritonéales à des souris femelles ont donné lieu à des infections lentes et torpides, cliniquement marquées par une atteinte du système nerveux, avec lésions rénales atypiques, variables. L'évolution n'est pas forcément fatale. La mise en évidence des *Candida* n'est pas toujours possible à l'examen microscopique ; il est alors nécessaire de faire des cultures qui, par leurs colonies multiples, montrent une certaine rareté des éléments pathogènes.

### Conclusions et Résumé

1. L'adjonction de 5 % de mucine à une suspension à 1 % de *Candida albicans* permet d'obtenir chez la souris des infections généralisées suivant certaines conditions.

2. Seule, l'injection péritonéale d'une telle suspension détermine toujours une infection généralisée. L'injection sous-cutanée ne permet d'obtenir qu'une lésion locale de type abcès plus ou moins chronique. L'injection intramusculaire ne donne qu'une collection locale qui se résorbe et guérit sans laisser de traces.
3. Le sexe de l'animal infecté expérimentalement donne à l'infection une allure particulière. Injectées par la seule voie péritonéale, les souris mâles font une infection aiguë évoluant vers la mort entre 3 et 5 jours ; alors que les femelles font des infections plus lentes évoluant au moins pendant 15 jours, soit se terminant par la mort, soit passant à la chronicité pendant plusieurs mois.
4. La méthode la plus facile et la plus rapide pour mettre les *Candida* en évidence dans les lésions nous paraît être le frottis par apposition, suivi d'une coloration par la méthode dite de May-Grünwald-Giemsa.

Dans le cas où la mise en évidence au microscope se révèle impossible, ou douteuse, il est indispensable de faire une culture avec le produit ou l'organe pathologique, afin de faire pousser le *Candida*.

5. Dans ces conditions, la souris est un animal bien moins coûteux que le lapin pour la production expérimentale d'une candidose, et, l'injection intrapéritonéale, une méthode plus comode que l'injection intraveineuse.

#### BIBLIOGRAPHIE

- REDAELLI (A.). — Experimental Moniliasis. *J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 27, 1924, p. 211.
- STOVALL (W.) et PESSIN (S.). — Pathogenicity of certain species of Monilia. *Ann. Journ. Publ. Health.*, vol. 24, 1934, p. 594.
- SALAZAR LEYTE (A.) et HORTA (J.). — *Resultados de Inoculacoes a animais de laboratorio de estirpes fungos levura diformes*, 1945.
- SEGRETAINE (G.). — Etude de la maladie expérimentale d'un lapin provoquée par un *Candida albicans*, agent probable d'une mycose pulmonaire. *Annales de l'Institut Pasteur*, vol. 73, 1947, p. 674.
- FUENTES (C. A.), SCHWARZ (J.) et ABOULAFIA (R.). — Some aspects of the pathogenicity of *Candida albicans* in laboratory animals. *Mycopathologia et Mycologia applicata*, vol. 6, 1952, p. 176.
- DROUHET (E.) et COUTEAU (M.). — Sur la détermination des *Candida*. Etude des caractères morphologiques et physiologiques de 78 souches isolées de prélèvements pathologiques. *Ann. de l'Institut Pasteur*, vol. 86, 1954, p. 602.

(Institut de Parasitologie. Directeur : P<sup>r</sup> H. GALLIARD)