

Influence de l'injection de Polyéthylène glycol 400 sur le développement de candidoses expérimentales chez la Souris.

par F. de CLOSETS et Ch. COMBESCOT

Laboratoire de Parasitologie et Médecine tropicale, U.E.R. des Sciences pharmaceutiques,
2 bis, bd Tonnellé, 37052 Tours Cedex.

Résumé.

Les auteurs font état de travaux montrant l'influence du polyéthylène glycol 400 sur l'évolution de la parasitose expérimentale à *Candida albicans* chez la souris.

Les animaux sont infestés par une seule injection intrapéritonéale d'une quantité connue de spores de *Candida albicans*, puis reçoivent quotidiennement une injection de polyéthylène glycol 400 à une dose inoffensive pour des souris non parasitées. Les animaux ainsi traités meurent rapidement d'une septicémie à *Candida*, alors que les témoins infestés dans les mêmes conditions, mais non soumis à des injections de polyéthylène glycol 400, survivent beaucoup plus longtemps ou bien guérissent.

Summary.

Influence of the injection of polyethyleneglycol 400 on the evolution of experimental candidosis of the Mouse.

The authors mention their work showing the influence of polyethyleneglycol 400 on the evolution of experimental candidosis in mice.

The animals are infested by one single intra peritoneal injection of a determined number of cells of *Candida albicans* and then receive daily an injection of polyethyleneglycol 400 1/2 0,2 ml (Harmless dose for non infested animals).

These animals die more quickly from *Candida albicans* septicaemia than others infested in same conditions but not treated by daily injections of polyethyleneglycol 400 1/2.

Accepté le 24 avril 1979.

Introduction

Au cours de l'essai de divers composés chimiques pouvant présenter une activité anti-candida, nous avons eu à tester des corps insolubles dans l'eau et avons utilisé le PEG 400 (1) comme solvant.

Or, il est apparu que ce produit provoquait très rapidement la mort des souris infestées avec *Candida albicans*, alors qu'il ne paraissait pas avoir d'action sur les souris saines.

Protocole expérimental

Nous avons utilisé des souris Swiss souche NMRI de 18 à 20 g femelles, âgées de 3 semaines.

Nous leur avons inoculé des spores de *Candida albicans* provenant de souches isolées à partir de prélèvements pathologiques. Il ne nous a pas été possible de mesurer la virulence de ces souches, celle-ci n'étant pas stable.

Les cultures sont effectuées à 28 °C sur milieu de Sabouraud solide; les spores sont récoltées après 24 heures, par lavage du milieu avec de l'eau distillée apyrogène.

Dans une première série d'expériences, 30 souris sont réparties en 3 lots de 10. Nous avons pratiqué aux souris du 1^{er} lot une inoculation de 2×10^8 spores de *Candida albicans* par voie intrapéritonéale. Celles du 2^e lot ont reçu, par cette même voie, une inoculation de 2×10^8 spores de *Candida albicans* et en plus, chaque jour, une injection intrapéritonéale de 0,2 ml de PEG 400 dilué au 1/2 (2).

Aux animaux du 3^e lot, servant de témoins, on injecte uniquement, chaque jour, du PEG 400 dilué au 1/2 à raison de 0,2 ml par voie intrapéritonéale.

Afin d'apporter une appréciation statistique valable des résultats, nous avons réalisé 12 fois le protocole expérimental décrit ci-dessus, en utilisant chaque fois une souche différente de *Candida albicans* récemment isolée de prélèvements pathologiques.

Nous relevons le nombre de souris décédées chaque jour. Ces animaux sont autopsiés et examinés.

Nous avons observé des lésions comparables à celles décrites par R. Hurley lors de candidoses expérimentales par des inoculations intrapéritonéales de spores de *Candida albicans* (1). A l'autopsie, la cavité péritonéale contient un liquide séro-sanguinolent. Des lésions nodulaires sont observées éparées sur la membrane péritonéale. On trouve aussi des nodules blanchâtres sur le foie, les reins et la rate qui ont gardé une taille normale.

Nous avons prélevé et mis en culture les viscères et le sang des animaux morts afin de réisoler *Candida albicans* et de confirmer la généralisation de la candidose.

Sur le *tableau I* figure le nombre de souris décédées au bout de 24 heures.

(1) Polyéthylène glycol 400 (PEG 400) de densité 1, 127-indice hydroxyle : 280.

(2) Ce qui correspond aux conditions habituelles d'emploi de ce solvant.

Tableau I. — Pourcentages de souris décédées 24 heures après l'infestation par *Candida albicans*.

(Test t = 9,01 — d.d.l. = 22 — confiance = mieux que 1/1000)

N° série	Lot 1	Lot 2	Lot 3
	Souris traitées au PEG	Souris traitées au PEG et infestées avec <i>C. albicans</i>	Souris infestées avec <i>C. albicans</i> sans PEG
1	0	90	0
2	0	50	0
3	0	90	10
4	0	70	30
5	0	60	10
6	0	50	0
7	0	40	10
8	0	40	10
9	0	80	10
10	0	80	10
11	0	100	10
12	0	100	10
% moyen	—	70,83	9,17
Variance (σ^2)	—	499,24	62,88

Le pourcentage moyen de souris décédées de candidose après traitement par le PEG 400 dilué au 1/2 est de 70,83 %.

Le pourcentage moyen de souris décédées de candidose seule est de 9,17 %.

Le test de Student indique que les différences entre ces nombres sont significatives à mieux que 1/1 000 (fig. 1).

Le tableau II rapporte le nombre de décès au bout de 48 heures.

Quatre-vingt-dix % de souris sont mortes dans le lot ayant reçu à la fois *Candida albicans* et PEG 400 dilué au 1/2, alors que 23,33 % des animaux sont décédés dans le lot ayant reçu uniquement *Candida albicans*.

Le test de Student indique que ces résultats sont significatifs à mieux que 1/1 000.

Pour essayer d'interpréter ces résultats, nous avons suivi l'évolution de candidoses expérimentales avec et sans PEG 400 dilué au 1/2 pendant des périodes plus longues allant jusqu'à 14 jours.

Le tableau III relate, pour 12 expériences, la moyenne des nombres de souris survivantes par lot de 10 animaux ayant subi une inoculation de 2×10^8 spores de *Candida albicans* avec, et sans injection quotidienne de PEG 400 dilué au 1/2, au bout de 1, 2, 5, 7 et 14 jours.

On note que dans le lot de souris ayant reçu seulement une inoculation de *Candida albicans*, au bout de 24 heures 95 % des souris survivent. Par contre, si le PEG 400 dilué au 1/2 a été injecté en plus, 60 % seulement sont encore en vie.

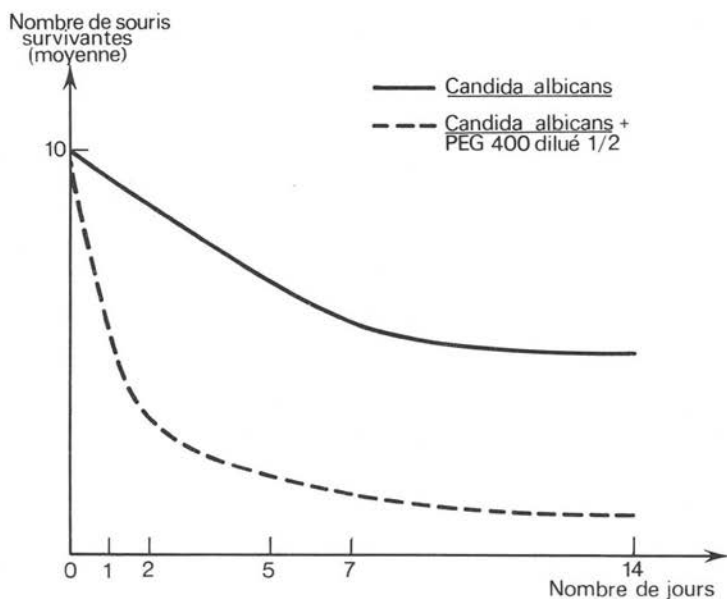


Fig. 1.

Tableau II. — Pourcentages de souris décédées 48 heures après l'infestation par *Candida albicans*.(Test $t = 9,52$ - d.d.l. = 22 - confiance = mieux que 1/1000)

N° série	Lot 1	Lot 2	Lot 3
	Souris traitées au PEG	Souris traitées au PEG et infestées avec <i>C. albicans</i>	Souris infestées avec <i>C. albicans</i> sans PEG
1	0	100	30
2	0	100	30
3	0	100	10
4	0	70	30
5	0	70	10
6	0	60	10
7	0	90	60
8	0	90	60
9	0	100	10
10	0	100	10
11	0	100	10
12	0	100	10
% moyen	—	90,00	23,33
Variance (σ^2)	—	218,18	369,70

Tableau III. — Evolution des candidoses expérimentales avec et sans injection de PEG 400 dilué.

Nombre de spores inoculées une seule fois	Nombre de souris survivantes après :				
	1 jour	2 jours	5 jours (moyennes)	7 jours	14 jours
Inoculations de 2.10^8 spores de <i>C. albicans</i> seules	9,5	8,6	7	5,4	5
Inoculations de 2.10^8 spores de <i>C. albicans</i> + PEG 400 dilué au 1/2 — 0,2 ml	6	3,3	2,3	1,3	1

Au bout de 48 heures, alors que 86 % des souris survivent de leur candidose, ce nombre tombe à 33 % chez les animaux ayant reçu en plus une injection quotidienne de PEG 400 dilué au 1/2.

Au bout de 5 jours, 70 % des souris survivent de leur candidose contre 23 % dans le lot traité par le PEG 400 dilué au 1/2.

Au bout de 14 jours, 50 % des souris survivent dans le 1^{er} lot et 10 % seulement après injection quotidienne de PEG 400 dilué au 1/2 (fig. 1).

Les différences entre les pourcentages de souris survivantes dans les deux lots apparaissent plus nettement encore dans les courbes ci-dessous.

Discussion

Quelques hypothèses peuvent être formulées pour tenter d'expliquer ces résultats.

A — S'agit-il d'une augmentation de la virulence de *Candida albicans* par transformation de *Candida* de la phase levure à la phase mycélienne plus virulente, induite par le diol, comme Saltarelli et ses collaborateurs l'ont observé avec certains composés sucrés (2), sans éliminer l'interférence possible de la race des animaux d'expérience comme le croient Albano et Schmitt (3).

Nous ne pouvons analyser ici l'influence éventuelle de la race des souris. Ce facteur devra néanmoins être pris en considération dans notre expérimentation future.

Pour rechercher la transformation de la phase levure en phase mycélienne nous avons entrepris l'examen histologique des organes des souris mortes de candidose.

Quant à la mesure de la virulence nous n'avons pu la préciser valablement étant donné son instabilité.

B — S'agit-il d'une simple addition de la toxicité de *Candida albicans* à celle du PEG 400?

Dans les conditions de nos expériences ce produit n'est pas toxique puisqu'une inoculation d'une dilution au 1/2 à raison de 0,2 ml par voie intrapéritonéale, n'a aucun effet sur les lots témoins, même répétée quotidiennement pendant 15 jours : aucune lésion macroscopique n'a pu être observée.

Le tableau IV indique le nombre des souris survivantes après 1, 2, 5, 10 et 15 injections successives à 24 heures d'intervalle de PEG 400 dilué au 1/2 à raison de 0,2 ml par voie intra-péritonéale.

Tableau IV. — *Effet de l'inoculation quotidienne de PEG 400 dilué au 1/2. par voie intra-péritonéale à la souris.*
(Lots de 10 souris).

Inoculation de PEG 400 dilué au 1/2 par jour	Nombre de souris survivantes après :				
	1 jour	2 jours	5 jours	10 jours	15 jours
0,2 ml	10	10	10	10	10

Il faut toutefois signaler que le PEG 400, employé pur, tue les souris à raison de 0,5 ml injecté par voie intrapéritonéale dès le 1^{er} jour. Mais déjà, à la dose de 0,2 ml, les souris le supportent mieux et nous sommes encore bien au-dessous des doses employées au cours de notre expérimentation.

Le *tableau V* indique le nombre de souris survivantes après 1, 2, 5 et 10 injections successives à 24 heures d'intervalle de PEG 400 pur à raison de 0,2 et 0,5 ml par voie intra-péritonéale.

Tableau V. — *Effet de doses variables de PEG 400 inoculé quotidiennement par voie intra-péritonéale.*
(Lots de 10 souris).

Inoculation de PEG 400 pur par jour	Nombre de souris survivantes après :			
	1 jour	2 jours	5 jours	10 jours
0,5 ml	0	0	0	0
0,2 ml	9	8	5	3

C — Y aurait-il un groupe chimique particulier agissant sur les souris atteintes de candidose?

Nous avons étudié dans les mêmes conditions un autre diol, le propylène glycol.

Ainsi que le montre le *tableau VI*, les effets de ce produit semblent comparables à ceux du PEG 400.

Tableau VI. — *Effet de l'injection de PEG 400 dilué au 1/2, de propylène glycol dilué au 1/2 à des lots de 10 souris infestées avec des spores de C. albicans.*

	Nombre de souris survivantes après :		
	1 jours	2 jours	15 jours
Inoculation de <i>C. albicans</i> seule : 0,5 ml (2.10 ⁸ spores/ml) ...	8	6	0
Polyéthylèneglycol 400 dilué au 1/2 — 0,2 ml par jour	10	10	10
Polyéthylèneglycol 400 dilué au 1/2 — 0,2 ml par jour + <i>C. albicans</i> 0,5 ml (2.10 ⁸ spores/ml)	0	0	0
Propylène glycol dilué au 1/2 — 0,2 ml par jour	10	10	10
Propylène glycol dilué au 1/2 — 0,2 ml par jour + <i>C. albicans</i> 0,5 ml (2.10 ⁸ spores/ml)	0	0	0

Conclusion

Le polyéthylène glycol 400 dilué au 1/2 est susceptible d'accélérer considérablement la mortalité de souris préalablement infestées expérimentalement par des quantités importantes de spores de *Candida albicans*.

Nos recherches se poursuivent pour tenter d'élucider le mécanisme de cet effet car ce produit est très couramment employé comme solvant par l'industrie pharmaceutique.

Bibliographie

1. Hurley R., 1966 : Effect of route of entry of *Candida albicans* on the histogenesis of the lesions in experimental candidosis in the mouse. *J. Pathol. Bacteriol.*, 92, 578-583.
2. Saltarelli C. G., Gentle K. A., Mancuso S. G., 1975 : Pathogenicity in mice of strains of *Candida albicans*. *J. Can. Microbiol.*, 21, 648-654.
3. Albano M. A., Schmitt J. A., 1973 : Lethality of *Candida* strains as influenced by the host. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, 49, 283-288.

Prenez note :

**Exceptionnellement, les Tables de l'année 1979 paraîtront
dans le n° 2/1980 des Annales de Parasitologie**