



La ciguatera, le mal de nos lagons

Les grands navigateurs du XVIème siècle (tels que Magellan et Christophe Colomb) décrivaient déjà l'intoxication par les poissons de lagon (plus rarement des coquillages), pourtant fraîchement pêchés. En effet, ce phénomène était déjà répandu dans les zones tropicales des trois grands océans : indien, pacifique et atlantique. En fait, on le retrouvait partout où il y a du corail.

Dès la fin de la seconde guerre mondiale, des équipes américaines s'intéressent à la ciguatera (taero ia, ou gratte). En 1967, à Tahiti, l'Institut Malardé crée une unité de recherche qui a pour mission la description et l'étude de ce problème inquiétant à bien des égards.

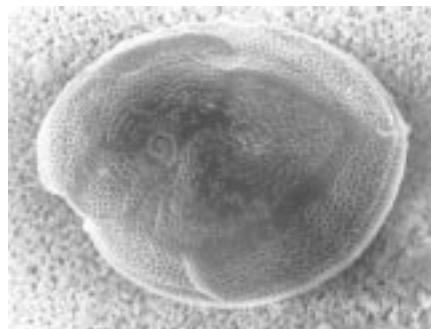
En effet, outre les nombreux cas observés (notamment aux Tuamotu et Gambier), elle constitue un frein au développement de notre pays.



Pendant les dix premières années, l'Institut Malardé a dû attaquer le problème sur différents fronts. Il fallait comprendre la pathologie engendrée par cette intoxication pour trouver les meilleurs traitements à préconiser. L'intoxication est caractérisée par des signes neurologiques assez typiques, sensations de picotements ou de décharges électriques au niveau des muqueuses (lèvres, muqueuse urétrale,...) ou de la peau (mains, pieds,...) surtout lors du contact avec l'eau froide. De plus, il existe des signes digestifs généraux (nausées, vomissements, diarrhées,...) et de démangeaisons (la "gratte"). Dans les cas d'intoxication grave, il existe des retentissements cardio-vasculaires (diminution du rythme cardiaque, baisse de la tension artérielle,...). Le traitement est symptomatique. Un régime alimentaire sans poisson ni protéines animales permet d'éviter une rechute clinique. Le pronostic est favorable en général sauf sur terrain fragile (enfants et vieillards).

Mais il fallait aussi avancer dans la connaissance des causes du problème. L'inventaire des poissons à risque a été réalisé. Ceci était particulièrement malaisé puisque certaines espèces sont toxiques quand on les pêche à un endroit, et parfaitement comestibles si elles sont pêchées ailleurs. L'intoxication dépendrait-elle du lieu de pêche ? Dans ce cas, la toxicité est-elle d'origine naturelle (coraux, algues, microbes...) ou est-elle liée à la pollution des lagons ? Cette longue période d'observation du phénomène permit aux scientifiques d'évaluer l'ampleur du problème.

Les observations démontrent, en 1975, que les algues qui se développent sur les coraux morts produisent une toxicité semblable à celle des poissons empoisonnés. Les chercheurs multiplient les prélèvements dans les lagons. Des tonnes de coraux morts sont brossés et lavés. La boue recueillie est filtrée, triée, analysée. Une multitude de micro-organismes y est observée. Enfin, en 1976, à l'occasion d'une forte flambée de ciguatera dans l'archipel des Gambier, le micro organisme responsable de la toxicité des poissons est identifié. C'est une **micro-algue unicellulaire** de la famille des **dinoflagellés**. Elle est baptisée *Gambierdiscus toxicus* (*G.t.*) (*Gambier* parce que découverte aux Gambier, *discus* parce qu'elle est plate et ronde et *toxicus* parce qu'elle est toxique).



Suite à la flambée ciguaterique de 1976, les recherches s'orientent vers trois axes différents.

La première approche consiste à essayer de cultiver *G.t.* au laboratoire. Le but : lui faire fabriquer de la toxine en grande quantité. Mais la mauvaise connaissance de sa biologie n'a pas permis, à cette époque, de mener à bien ce projet.

La deuxième approche consiste, elle, à mieux connaître la chimie des toxines. Les extraits des *G.t.* sauvages prélevés sur le site de la flambée de 1976 sont étudiés. Deux types de composés différents sont mis en évidence :

- Des composés lipidiques dont la ciguatoxine (CTX), que l'on retrouve aussi dans la chair et le foie de nombreux poissons responsables d'intoxications ciguateriques (carangues, loches, perroquets...).
- Des composés hydrosolubles dont les maitotoxines, qui tirent leur nom du fait qu'elles ne sont présentes que dans le tube digestif de *maito* (poisson chirurgien).
Il faut noter que la chair des *maito* peut aussi contenir des CTX.

Enfin, la troisième approche consiste à adapter, pour le laboratoire, une méthode permettant de détecter et quantifier la toxicité des extraits de poissons à tester. Le test de référence est le « test souris ». La préparation de quelques microgrammes d'extrait sec nécessite un kg de chair de poisson. L'extrait est repris dans quelques millilitres de liquide physiologique injectés à plusieurs lots de souris. On étudie la durée de survie des animaux, et leur pathologie, en fonction de la dose qui leur a été injectée. On définit la DL_{50} comme étant la dose d'extrait toxique entraînant la mort de la moitié des souris injectées.

En 1984, le « test souris » a été remplacé par le « test moustique » pour le criblage (épidémiologie) des poissons.

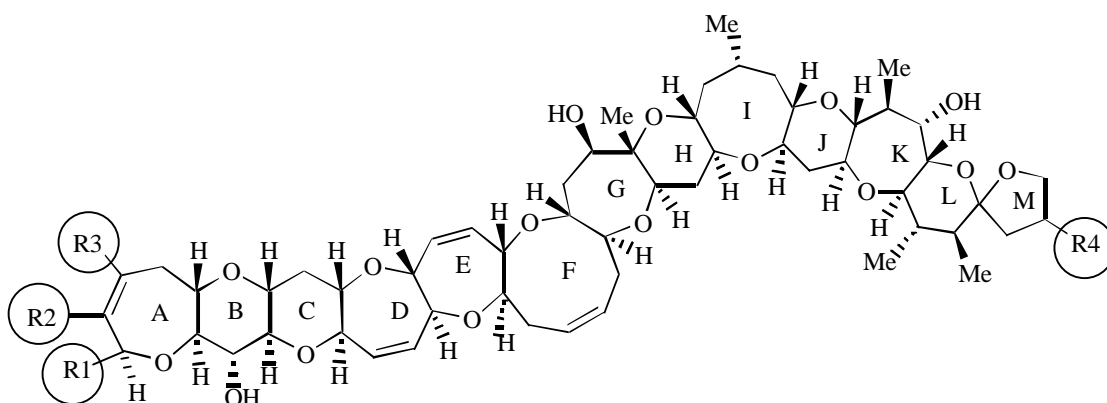


En 1986, les choses s'accroissent. L'acquisition de matériels de Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) permet d'obtenir des extraits de ciguatoxines très purs. A nouvelle possibilité, nouveau challenge : percer le mystère de la formule chimique des toxines.



Mais que ce soit dans les poissons ou dans les algues, les toxines ne se trouvent qu'à l'état de traces. L'Institut s'engage dans une course à la concentration et purification... 4 tonnes de murènes sont pêchées et vidées. Leurs 140 Kg de viscères permettent d'extraire et purifier 350 µg d'une première toxine très puissante dans les poissons carnivores : la CTX 1B. Parallèlement, quelques 20 milliards de cellules de *Gambierdiscus sauvage* sont recueillies et traitées. Elles fourniront 740 µg d'une seconde toxine : la CTX 4A. Cette toxine fut également retrouvée dans les chairs de poisson perroquet.

En 1989, enfin, grâce à ces extraits des plus précieux, la structure chimique polyéther des deux toxines est établie. De nouvelles perspectives s'ouvrent. Mais un inconvénient majeur apparaît pourtant : La synthèse de telles structures chimiques n'est encore qu'expérimentale, et met en œuvre des techniques extrêmement lourdes et coûteuses. Les extractions fastidieuses devront être poursuivies...



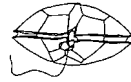
Structure du « squelette » polyéther des ciguatoxines

Cependant, les résultats de ces analyses chimiques font apparaître aux chercheurs un fait nouveau : la structure chimique des ciguatoxines se modifie le long de la chaîne alimentaire.

Pour doser la toxicité de ces molécules, on étudie cette fois encore leur DL_{50} , c'est à dire la quantité de toxine qui entraîne la mort de 50% des souris injectées (exprimée en ng de toxine par souris de 20g).

Toxine	Origine	DL_{50}	R1	R2	R3	R4
CTX 1B	Murène	6 ng/souris	-CH=CH-CHOH-CH ₂ OH	H	H	OH
CTX 4A	G. t.	240 ng/souris	-CH=CH-CH=CH ₂	H	H	H

Tableau comparatif des ciguatoxines 1B et 4A



Depuis, toutes les recherches dans ce domaine tendent vers un même but : la détection de toutes les ciguatoxines dans un poisson. Le test idéal serait le plus sensible, le plus spécifique, le plus rapide et le moins coûteux possible.

Pour la détection des toxines dans les poissons et la micro-algue, plusieurs approches sont envisagées.

- L'amélioration constante des méthodes d'analyse chimique montre aujourd'hui qu'il existe plus d'une vingtaine de ciguatoxines différentes ! 8 d'entre elles sont aujourd'hui parfaitement décrites. Les ciguatoxines agissent sur les cellules nerveuses et musculaires, en se fixant sur les canaux sodiques, qui assurent le transfert du signal nerveux en permettant l'entrée d'ions sodium. Chaque ciguatoxine a une affinité différente pour ces canaux sodiques des membranes.

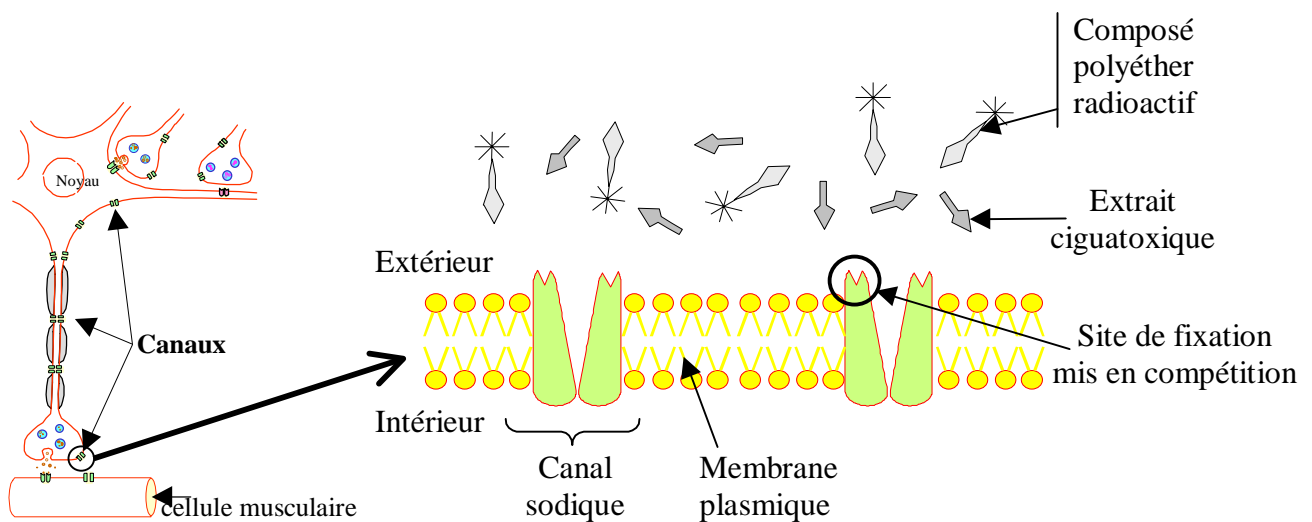


Schéma explicatif de la réaction de fixation spécifique

Pour la mesurer, on met en compétition la ciguatoxine avec un composé radioactif qui a le même site de fixation. En présence de quantité fixe de produit radioactif, des concentrations croissantes de ciguatoxine sont mises à réagir avec les membranes. Plus il y a de toxine, moins le composé radioactif pourra se fixer. On obtient ainsi une courbe de compétition qui permet de déterminer la concentration de ciguatoxine qui inhibe 50% de la fixation du composé radioactif sur les canaux sodiques. On détermine ainsi la CI_{50} (Concentration Inhibitrice à 50%).

Ce principe est aujourd'hui utilisé pour essayer de détecter la présence de ciguatoxines dans un extrait de quelques grammes de poisson.

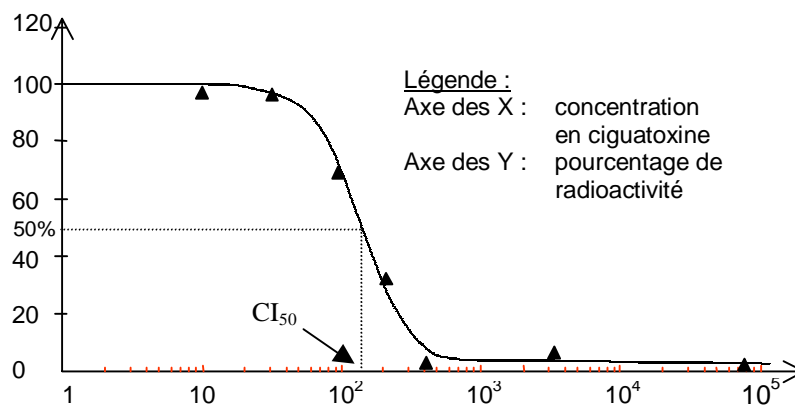


Figure CI_{50} : courbe de compétition d'une ciguatoxine

- L'étude de la biologie de la micro-algue se trouve enrichie des apports des techniques modernes de biologie moléculaire. On sait désormais avec certitude que c'est bien *Gambierdiscus* qui produit les toxines. Cependant, tous les *G.t.* ne produisent pas de ciguatoxines. La recherche de gènes spécifiques de la production de ciguatoxines permettra de préciser quelles sont les souches productrices. Ceci permet d'envisager, dans un futur que l'on espère proche, la surveillance de certaines zones lagunaires particulières (zones de pêche, zones d'élevage) en contrôlant l'absence de *G.t.* ciguatoxiques. D'ores et déjà, on obtient par culture au laboratoire quelques unes de ces toxines si difficiles à obtenir par ailleurs.
- L'étude immuno-chimique des ciguatoxines a pour objectif la mise au point d'un test de détection immunologique sur les poissons. Ce test repose sur la capacité d'un anticorps à se fixer sur l'antigène contre lequel il est spécifiquement dirigé.
Le principe d'obtention de ces anticorps semble simple : On immunise des animaux contre des ciguatoxines purifiées puis on récupère et on met en culture leurs cellules productrices d'anticorps. On est ainsi assuré d'avoir, au laboratoire, une source de production d'anticorps constante.
Seulement voilà. Les ciguatoxines ne sont pas capables, seules, de susciter une réponse immunitaire. Il faut les coupler à une molécule plus grosse et immunogène, une protéine. Mais les techniques de couplage ont un rendement faible et nécessite beaucoup de toxine. Et justement, les toxines, compte tenu des difficultés à les obtenir et à les purifier, sont très précieuses. Pas question donc de risquer les maigres réserves de toxines dans des tests préliminaires.
C'est pourquoi les essais préliminaires utilisent des molécules modèles, facilement disponibles et peu coûteuses. Les travaux se poursuivent et sont en bonne voie.
- Enfin, depuis peu, l'Institut Malardé, en collaboration avec des laboratoires japonais, explore une nouvelle voie ouverte par les nouvelles techniques de spectrométrie de masse couplée à l'HPLC pour détecter et doser toutes les ciguatoxines (même encore inconnues), et ce dans tout type d'extrait.



Questions

- 1) *En quoi la ciguatera vous semble-t-elle être un frein au développement économique d'un pays ?*
- 2) *Décrivez le test moustique tel que vous l'imaginez. Quels avantages et inconvénients pouvait-il représenter, à l'époque, par rapport au test souris ?*
- 3) *Schématisez l'origine de la ciguatera et son mode de transmission jusqu'à l'Homme.*
- 4) *Comment, selon vous, expliquer l'existence de souches de *G.t.* productrices de ciguatoxine et de souches non productrices ?*
- 5) *Quelles conclusions pouvez-vous tirer de la comparaison des DL_{50} des CTX 1B et CTX 4A*
- 6) *Commentez la figure CI_{50} . Donnez l'allure d'une courbe de compétition (et l'évolution de la CI_{50}) d'un poisson non toxique, puis d'un poisson très toxique. Justifiez.*
- 7) *Le « test de fixation spécifique » présente bien des avantages. Il est reproductible, sensible et facile à réaliser dans les laboratoires de l'Institut Malardé.
Pourquoi, dans ces conditions, n'est il pas utilisable tel quel dans des structures légères de laboratoire ?
Quelle(s) modification(s) proposeriez-vous pour qu'il le devienne ?*