

Immunodétection de la ciguatoxine

La mise au point d'un test immuno-chimique sensible et spécifique pour la détection de poissons ciguatoxiques demeure un grand défi. Bien qu'une trousse de dépistage, qui doit être commercialisée, soit en cours de conception et de mise au point, nous avons lancé notre propre projet d'immunodétection il y a quelques années à l'Institut Pasteur, à Paris. La présence d'un groupe hydroxyle terminal dans la molécule de CTX laisse supposer qu'on pourrait l'utiliser sélectivement pour préparer un composé ciguatoxine-protéine pouvant être injecté aux animaux pour les immuniser.

Etant donné qu'il s'agit de micro-quantités de toxine purifiée, il faut mettre au point des techniques de miniaturisation. Une première expérience a été réalisée au moyen de monensin, un polyéther de faible masse moléculaire. On a réussi à produire des anticorps spécifiques au monensin dans les lapins et les souris. D'importantes quantités de monensin ont été converties en hémisuccinate et fixées par liaison covalente à de l'albumine bovine au moyen de la méthode anhydre mixte.

Les deux antisérums ont été utilisés dans le cadre d'un dosage micro-enzymétrique sur plaques Terasaki et ont réagi fortement avec les composés monensin-protéine lors d'un test indirect et dans une moindre mesure avec du monensin libre lors d'un dosage par compétition. Aucune réactivité hétérospécifique contre la CTX n'a été décelée, mais l'élaboration d'un

test immuno-chimique miniaturisé pour le monensin, fondé sur un réactif monoclonal, a constitué la base de l'élaboration de tests immunologiques semblables pour les haptènes polyéthers.

Une méthode exigeant à peine 100 µg d'haptène est à l'étude avec de la brévétotoxine PbTx-3 et de la CTX. Les résultats d'expériences récentes sont très prometteurs et des produits d'immunisation sont en cours d'échantillonnage.

Bibliographie

- Legrand, A.-M., M. Litaudon, J.-N. Genthon, R. Bagnis et T. Yasumoto. 1989. *Isolation and some properties of ciguatoxin*. J. Appl. Phycol. 1, 183-188.
- Legrand, A.-M., M. Fukui, P. Cruchet, Y. Ishibashi et T. Yasumoto. 1992. *Characterization of ciguatoxins from different fish species and wild G. toxicus*. Dans : Actes de la troisième Conférence internationale sur la ciguatera, Porto-Rico, T. R. Tosteson (éd.), Polyscience Publications, Québec, Canada, pp. 25-32.
- Murara, M., A.-M. Legrand, Y. Ishibashi et T. Yasumoto. 1989. *Structure of ciguatoxin and its congener*. J. Am. Chem. Soc., 111, 8929-8931.
- Pauillac, S., T. Malmos, H. Labrousse, K. Antonakis et S. Avrameas. 1993. *Production of highly specific monoclonal antibodies and development of a micro-elisa test for monensin*. J. Immunol. Methods (sous presse).

Structures et origine des toxines ciguatériques

par Takeshi Yasumoto
Faculté d'agronomie
Université Tohoku, Sendai (Japon)

Les biochimistes qui se sont attachés à élucider la structure des toxines ciguatériques se sont heurtés à une tâche difficile, certes, mais combien passionnante. Pour commencer, il était difficile d'obtenir d'importantes quantités de poisson toxique pour en extraire les toxines. La concentration extrêmement basse des toxines dans le poisson rendait le processus de purification laborieux et fastidieux. Des tonnes de poissons ne produisaient qu'une quantité



minuscule de toxine pure dont la complexité moléculaire ne faisait qu'accroître la difficulté.

En dépit de ces difficultés, et grâce à l'évolution rapide des techniques de spectroscopie ainsi qu'à la collaboration de nombreux amis, nous avons pu élucider la structure de plusieurs toxines importantes, et nous sommes tout à fait convaincus que celle de la majorité des toxines ciguatériques le sera très bientôt. Sur quoi nous pencherons-nous ensuite? Les chimistes ne sont pas au bout de leurs peines: élaboration de méthodes d'analyse, préparation d'antigènes et synthèse des toxines, tandis que plusieurs autres aspects intéresseront les biologistes.

Nous connaissons à présent la structure de la ciguatoxine (CTX) isolée à partir de murènes, et celle de la CTX-4B, isolée à partir de *Gambierdiscus toxicus* à l'état naturel. La ressemblance que présente la structure moléculaire de ces deux toxines indique que la CTX-4B est le précurseur de la CTX, et qu'une série de modifications par oxydation de la molécule CTX-4B se produit dans le foie du poisson. Le processus d'oxydation rappelle le rôle que joue l'hémoprotéine P450, qui oxyde les toxines lipophiles (par exemple, l'aflatoxine), de façon à ce que les métabolites hydrophiles qui en résultent puissent être éliminées dans l'urine. L'oxydation de CTX-4B en CTX pourrait donc être considérée comme une sorte de processus de détoxification.

Or, il se produit exactement l'inverse avec la CTX-4B; au lieu d'être détoxifié, le produit oxydé (CTX) présente en fait une toxicité neuf fois supérieure à celle du précurseur.

Nous pouvons en déduire que les murènes sont plus toxiques que les perroquets, en premier lieu parce que la murène se trouve à un niveau plus élevé de la chaîne élémentaire et parce qu'elle accumule les toxines sous la forme la plus toxique. Si les enzymes qui catalysent l'oxydation sont découverts, ils nous aideront à comprendre comment les toxines sont métabolisées et permettront aux chimistes de provoquer des réactions qu'ils ne peuvent obtenir avec des réactifs.

Nous avons récemment élucidé la structure de la maitotoxine (MTX), le plus important produit naturel à avoir jamais été découvert. La MTX est près de trois fois plus grande que la CTX, et sa formule moléculaire est $C_{164}H_{256}O_{68}S_2Na_2$; sa masse moléculaire est de 3422 Da.

Elle est composée d'une chaîne carbonée C142, de 32 cycles d'éther, de 28 hydroxyles et de

21 méthyles. Comme c'est le cas pour la CTX, la majorité des cycles d'éther de la MTX sont fusionnés en forme d'échelle. Quoiqu'il en soit, les deux toxines sont des entités moléculaires entièrement différentes, la CTX ne faisant pas partie de la structure de la MTX.

À l'évidence, il sera donc impossible de convertir la MTX en CTX en faisant absorber de la MTX à des poissons ou à des bactéries, selon des hypothèses avancées auparavant.

Au cours de nos récents travaux, nous avons également confirmé qu'une souche de *G. toxicus* produit des analogues de CTX en culture. Les structures de la CTX-3C et CTX-4A obtenues par culture ont été confirmées sans ambiguïté par des mesures spectroscopiques. Ces résultats mettent un terme à la longue controverse au sujet du fait que *G. toxicus* constitue la véritable source des toxines ciguatériques. La souche (RAI1) faisait partie des six qui ont été testées.

En recueillant et en isolant un plus grand nombre de souches, on pourrait espérer trouver d'autres souches produisant des analogues de la CTX, peut-être même en quantités supérieures à celles que produit notre souche RAI1. Comme les progrès que l'on réalisera à l'avenir dans l'étude de la ciguatera sont tributaires d'un approvisionnement suffisant en toxines, et comme l'approvisionnement actuel à partir de poissons est très limité, la perspective d'obtenir des toxines grâce à des cultures d'algues est très encourageante.

On peut même rêver qu'un jour, nous obtiendrons de la CTX en oxydant ses précurseurs produits par les algues au moyen d'enzymes hépatiques. Nous aimerions exhorter les biologistes à collecter et à tester le plus grand nombre possible de souches de *G. toxicus* en vue de la production de ces précieuses toxines.

Dépistage de la ciguatera dans les poissons de récif à l'aide du test immunochimique sur bâtonnets (SPIA)

par Y. Hokama,
Département de pathologie,
Université d'Hawaï, Honolulu

Cette étude a été publiée dans le *Journal of Clinical Laboratory Analysis* en 1993. Elle porte sur l'évaluation d'un système de dépistage de la ciguatera conçu en laboratoire et fondé sur le test immunochimique sur bâtonnets (SPIA) pour la détection de la ciguatoxine et des polyéthers apparentés dans les poissons de récif à Hawaï. Le SPIA a été réalisé sur des poissons fournis bénévolement par des pêcheurs dans tout l'Etat d'Hawaï.

L'expérimentation a porté sur un total de 1067 poissons représentant 61 espèces différentes, comme l'indique le *Journal of Clinical Laboratory Analysis* de 1990. Cinq-cent dix poissons venaient de l'île d'Oahu, 402 d'Hawaï (grande île) et 75 de Maui. Vingt-trois autres poissons provenaient de Molokai, 20 de Kauai et 7 de Lanai. Vingt pour cent des résultats ont été positifs, 41% douteux et 39% négatifs. Les poissons ayant réagi positivement au test