



### 1. LES TOXINES BOTULIQUES

sont produites par *Clostridium botulinum*, des bactéries en forme de bâtonnets (tels ceux représentés sur cette vue d'artiste). Dans un environnement stressant, la bactérie forme une structure résistante – la spore – qui ne se multiplie plus. La spore germe à nouveau quand l'environnement devient favorable, colonise le lieu (un aliment ou directement la flore intestinale) et excrète les toxines.

César Mattei et Frédéric Meunier

**L'étude des mécanismes d'action des toxines botuliques, responsables d'une maladie grave, le botulisme, a permis la mise au point de traitements de certaines maladies neuromusculaires.**

# Toxines poison et

**D**urant l'été 2011, plusieurs personnes ont été victimes d'une intoxication alimentaire après avoir consommé des tapenades artisanales achetées dans le Sud de la France. Ces produits en conserve étaient contaminés par les plus puissantes toxines du règne vivant : les toxines botuliques. Ces toxines sont synthétisées par une bactérie anaérobie, *Clostridium botulinum*. L'ingestion de cette bactérie présente dans certains aliments peut entraîner une infection alimentaire complexe, le botulisme, qui doit son nom au latin *botulus* (boudin) – l'une des premières descriptions de la maladie, à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle en Allemagne, ayant identifié des saucisses comme agent contaminant. Les documents historiques sur les intoxications alimentaires sont rares avant le XVIII<sup>e</sup> siècle, mais on sait qu'au X<sup>e</sup> siècle, l'empereur byzantin Léon VI interdit

la fabrication de boudin, sans doute suite à une intoxication de type botulisme.

### Des toxines du système nerveux

D'un côté responsables d'intoxications alimentaires graves et considérées comme une arme biologique potentielle, ces molécules naturelles sont également utilisées en médecine, et ce, dans un nombre croissant d'indications thérapeutiques. La description des mécanismes d'action de ces toxines à l'échelle cellulaire a beaucoup progressé et devrait permettre de développer encore leur utilisation thérapeutique tout en limitant leurs effets secondaires. C'est cette dualité des toxines botuliques que nous examinerons ici, de la maladie qui les fit connaître aux traitements qu'elles fournissent. Nous verrons comment

maladie et traitements reposent sur un même principe : la paralysie flasque des muscles. Mais, tout d'abord, qu'est-ce qu'une toxine ?

Du grec *toxicon* (poison recouvrant les flèches), une toxine est une biomolécule létale à faible concentration, qui confère un pouvoir paralysant à l'organisme qui la sécrète. On en trouve partout. Dans le règne animal, les toxines sont les constituants majeurs des venins : scorpions, serpents, araignées, cônes, insectes, amphibiens, et bien d'autres, utilisent les toxines dans des stratégies de prédation ou de défense contre un adversaire. Les espèces animales ont évolué en fonction de leur environnement, parfois en synthétisant des toxines, dans une sorte de course à l'armement biologique entre espèces concurrentes. Les végétaux sécrètent aussi des toxines, qu'ils utilisent souvent pour repous-



© MedicalRF.com/Corbis

## L'ESSENTIEL

- ✓ Produites par une bactérie présente dans le sol, les toxines botuliques contaminent l'homme *via* des aliments en conserve mal ou pas stérilisés.
- ✓ Le botulisme se traduit par une paralysie flasque des muscles, qui peut entraîner la mort.
- ✓ Les toxines bloquent les signaux transmis par le système nerveux aux muscles, les empêchant de se contracter.
- ✓ Depuis quelques années, plusieurs cibles moléculaires des toxines dans les neurones ont été identifiées.
- ✓ La compréhension du mécanisme d'action des toxines permet de les utiliser pour traiter certaines pathologies liées à une hyperstimulation des muscles.

# botuliques : médicament

ser des parasites ou des herbivores. Certains champignons et algues sont également des producteurs de toxines. Enfin, comme *Clostridium botulinum*, de très nombreux types de bactéries libèrent des toxines qui faciliteraient leur expansion, et sont en conséquence des vecteurs de maladies (tétanos, diphtérie, anthrax, choléra...).

Le système nerveux central et périphérique est l'une des cibles principales des toxines, nommées alors neurotoxines. Pour des animaux venimeux, l'avantage d'une neurotoxine réside dans sa capacité à neutraliser une proie, en la paralysant. Dans des contextes écologiques très divers, l'usage d'un venin permet par exemple à un animal lent d'immobiliser rapidement une proie. La paralysie revêt deux formes antagonistes : une paralysie flasque – où l'adversaire perd son tonus musculaire – et une paralysie spastique,

exagération de la contraction musculaire qui « fige » l'animal ciblé.

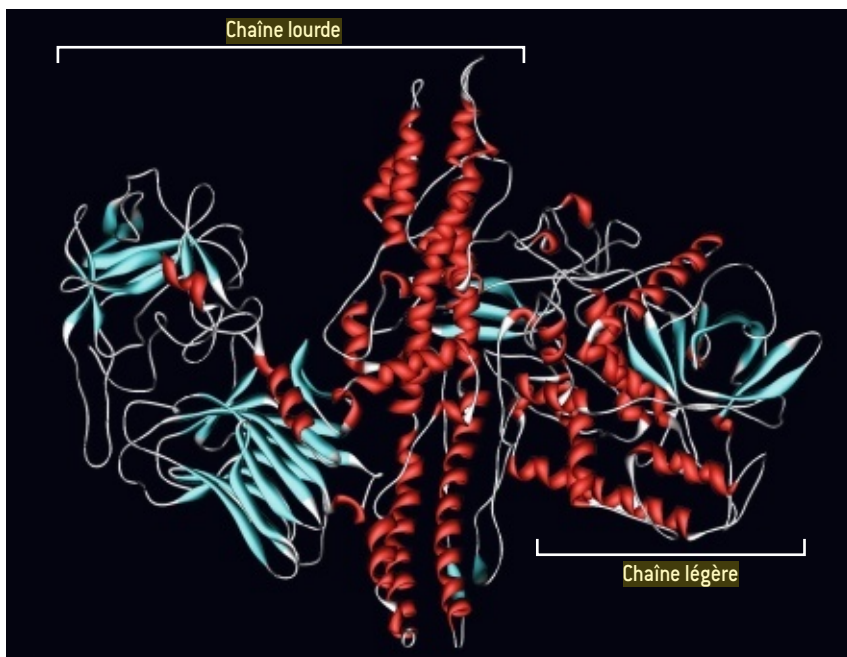
Ces effets paralysants sont dus à l'action d'une ou plusieurs toxines qui se fixent sur un récepteur membranaire impliqué dans la contraction musculaire. La compréhension du mode d'action d'une toxine permet à la médecine d'envisager un traitement adéquat dans des cas d'envenimations. En recherche, les neurotoxines sont aussi utilisées depuis plus d'un siècle comme outils pharmacologiques pour étudier les mécanismes moléculaires et physiologiques dans le système nerveux. Depuis plus longtemps encore, l'homme exploite le pouvoir de toxines dont il a observé les effets dans la nature, que ce soit pour la chasse (le curare) ou en médecine traditionnelle (la digitale).

Les toxines botuliques font partie des neurotoxines qui agissent sur le système

nerveux périphérique. C'est en étudiant les symptômes du botulisme et en recherchant les cibles de ces toxines dans le système nerveux que l'on a mis en évidence leurs mécanismes d'action.

## Les symptômes : une paralysie flasque

Le botulisme revêt plusieurs formes chez l'homme. La plus répandue est le botulisme infantile, auquel on impute certains cas de mort spontanée du nouveau-né. Le passage, pour un nourrisson, du lait maternel à une nourriture exogène l'expose à des contaminants alimentaires que sa propre flore bactérienne, son système digestif et son système immunitaire, immatures, ne peuvent encore systématiquement éliminer. La présence abondante de *Clostridium botulinum* à la



Wikimedia Commons / Lacy et al., Nat. Struct. Biol. vol. 5, pp. 898-902, 1998.

**2. LA TOXINE BOTULIQUE A** comporte deux chaînes principales : une chaîne lourde qui lui permet d'entrer dans les neurones de l'organisme infecté, et une chaîne légère qui porte son activité toxique.

surface d'aliments aussi courants que le miel représente un danger potentiellement mortel pour un bébé. C'est pourquoi l'utilisation du miel est déconseillée chez le nourrisson. La consommation accidentelle de la bactérie entraîne chez l'enfant une paralysie flasque. La mort survient par arrêt cardio-respiratoire.

Chez l'adulte, le botulisme est observé après ingestion d'aliments contaminés et mal stérilisés – c'est le cas de certaines conserves artisanales ou familiales. Une autre forme infectieuse de botulisme, qui se transmet par une plaie, a été observée chez des toxicomanes qui avaient échangé des seringues. Enfin, des cas – rares – de botulisme « de laboratoire » sont connus, chez les chercheurs qui manipulent la bactérie ou ses toxines. La contamination inter-humaine n'existe pas.

En fait, les cas de botulisme répertoriés sont rares : près de 1 000 par an dans le monde. En France, par exemple, entre 2007 et 2009, 45 personnes ont été atteintes, dont 4 bébés. Néanmoins, la maladie persiste et se manifeste souvent sous des formes graves qui justifient le maintien de la surveillance.

Chez une personne intoxiquée, les symptômes apparaissent 12 heures à 3 jours après l'exposition aux toxines. Les signes sont essentiellement d'ordre neurologique et musculaire : il s'agit d'une paralysie flasque, progressive et symétri-

que. La paralysie des muscles squelettiques est caractéristique du botulisme. Dans les cas graves, les muscles lisses du système respiratoire sont atteints, ce qui peut conduire à une paralysie respiratoire entraînant le décès si le sujet n'est pas pris en charge très rapidement. La récupération fonctionnelle complète des muscles paralysés survient généralement quelques mois après un épisode botulique. Des séquelles sont néanmoins possibles, en particulier une difficulté respiratoire ou une fatigabilité musculaire.

## Un vaccin utilisé avec parcimonie

Avant d'identifier la toxine, on soulage la détresse respiratoire du malade en le plaçant sous ventilation artificielle. Quand le sérotype de la toxine est connu, un antiserum dirigé contre la toxine incriminée est administré.

D'origine animale, cette antitoxine constitue une protection efficace contre la toxine botulique de type A, à condition que le botulisme soit diagnostiqué suffisamment tôt. Toutefois, l'apparition de réactions allergiques aiguës a stimulé la recherche de nouveaux vaccins d'origine humaine. Ces vaccins ne sont administrés qu'aux personnels de laboratoire et aux militaires exposés à un risque de botulisme, car ils présentent un inconvénient majeur : ils excluent, pour les personnes vaccinées, l'utilisation de ces toxines comme traitements contre certaines pathologies neuromusculaires – une spécialité médicale, nous allons le voir, en expansion.

Contrairement à d'autres maladies bactériennes, le botulisme ne doit pas être traité avec des antibiotiques, car, en lysant les bactéries *Clostridium botulinum* présentes dans le système digestif, les antibiotiques augmenteraient la libération de toxines et leur concentration dans le sang.

Même si d'autres souches de bactéries *Clostridium* sécrètent des toxines botuliques, *Clostridium botulinum* en est le producteur principal. Présente dans les sols, la bactérie est particulièrement résistante aux diverses contraintes environnementales, notamment la chaleur, grâce à un mécanisme de sporulation. Elle entre dans un état de dormance en formant une structure résistante – une spore – qui redonnera une bactérie lorsque les conditions redeviendront favorables. Il existe sept sérotypes de toxines botuliques, dési-

## Une toxine antidouleur

✓ Plusieurs neurotoxines sont exploitées en clinique. Ainsi, l'oméga-conotoxine MVIIA, sécrétée par le cône *Conus magus* (ci-dessous), est utilisée contre la douleur chronique, car elle inhibe des canaux calcium spécifiques des neurones sensoriels de la douleur. Elle est utilisée chez des malades atteints de cancer ou du sida avec une activité environ 10 000 fois supérieure à celle de la morphine.



© Shutterstock/Onhel

gnés par les lettres A à G. Les intoxications alimentaires humaines sont très souvent associées aux sérotypes A, B ou E (dans le cas des tapenades contaminées, il s'agissait de la toxine botulique A).

Les toxines botuliques sont de grosses protéines dotées d'une activité protéolytique, c'est-à-dire capables de cliver – découper – certains types de protéines cibles. La toxine est d'abord produite par la bactérie sous la forme d'une protéine unique. Ensuite s'assemblent deux chaînes reliées par un pont disulfure : une chaîne lourde lui permet d'entrer dans les cellules neuronales et une chaîne légère porte l'activité toxique (voir la figure 2). Quand elle est ingérée, la toxine est au sein d'un supercomplexe protéique : elle est entourée de plusieurs autres sous-unités non toxiques qui la protègent de l'environnement destructeur du tube digestif.

Lorsqu'une personne ingère des toxines botuliques dans des aliments contaminés ou des spores de la bactérie *Clostridium botulinum*, les toxines entrent dans l'appareil digestif. Elles traversent la paroi du tube digestif par transcytose : au sein de petites vésicules, elles pénètrent dans les cellules

gastro-intestinales qui tapissent le tube digestif et ressortent de l'autre côté de la paroi. Elles atteignent ainsi la circulation sanguine ou lymphatique, où elles sont transportées jusqu'à leur cible : les jonctions neuromusculaires, c'est-à-dire ce qui relie le système nerveux périphérique et les fibres musculaires squelettiques.

## Leur cible : la jonction neuromusculaire

En temps normal, la contraction musculaire – qui commande l'ensemble des mouvements du corps humain – s'effectue selon la séquence d'événements suivants. En premier lieu, un neurone moteur, issu de la moelle épinière, conduit l'influx nerveux – ou potentiel d'action – le long de la fibre nerveuse. Parvenu à l'extrémité terminale du neurone, ce potentiel d'action déclenche la libération, dans l'espace séparant le neurone de la fibre musculaire, d'acétylcholine, un neurotransmetteur. L'acétylcholine se fixe sur son récepteur porté par la membrane de la cellule musculaire. Fixée à son récepteur, l'acétylcholine déclenche un potentiel d'action musculaire et une cas-

cade de réactions qui aboutit à la contraction des fibres musculaires, et donc du muscle tout entier (voir l'encadré page 46).

Les toxines botuliques empêchent la libération d'acétylcholine. C'est ce qu'ont montré, dans les années 1980, plusieurs équipes dont celle de Jordi Molgó, du Laboratoire de neurobiologie cellulaire et moléculaire (CNRS), à Gif-sur-Yvette, en collaboration avec Stephan Thesleff (Université de Lund, en Suède). Elles « intoxiquent » le neurone moteur en quatre étapes : elles se lient d'abord à une molécule – un récepteur – sur la membrane des terminaisons neuronales. Puis elles entrent dans le neurone par une stratégie de cheval de Troie : elles sont internalisées au sein de vésicules dites synaptiques au cours de l'endocytose, processus par lequel le neurone produit de nouvelles vésicules par invagination de sa membrane. À l'intérieur du neurone, elles se libèrent de leurs vésicules et, dernière étape, lysent leurs cibles, des protéines impliquées dans la libération des neurotransmetteurs. Or si l'acétylcholine n'est pas libérée, l'influx nerveux n'est pas transmis et le muscle est paralysé ! Ce mécanisme est comparable à celui

## Un agent du risque biologique

Extrêmement toxiques, relativement faciles à produire, les toxines botuliques sont considérées comme des agents du risque biologique parmi les plus dangereux. Les agents du risque biologique sont des entités vivantes, ou issues du vivant, susceptibles d'être utilisées à des fins militaires ou par une entité terroriste contre une population civile. L'objectif est d'infliger à une population humaine ou animale, ou à des denrées agricoles, une maladie entraînant des pertes et des conséquences importantes sur le plan économique et psychologique. Les principaux agents du risque biologique sont des virus (variole, fièvre hémorragique), des bactéries (peste, charbon, tularémie) et des toxines (saxitoxine, ricine, toxines botuliques).

Quand on s'intéresse aux critères qui permettent de classer ces agents comme militarisables, ce n'est pas la bactérie productrice (*Clostridium botulinum*), mais les neurotoxines qu'elle excrète qui représentent l'arme biologique. Elles sont do-

tées d'un très faible seuil infectieux ; elles ne sont pas contagieuses, donc épargnent l'utilisateur ; elles font rarement l'objet d'une vaccination, et leurs symptômes apparaissent assez vite (de quelques heures à quelques jours). C'est ce qui a conduit, fin 2001 (suite à l'envoi de lettres piégées à l'anthrax), les Centres américains de contrôle des maladies (CDC) à classer les toxines botuliques dans la catégorie A, le degré le plus élevé du risque biologique. La dose létale 50 pour les toxines botuliques, c'est-à-dire la concentration nécessaire pour tuer la moitié d'un échantillon, est estimée entre un et trois nanogrammes par kilogramme en injection intraveineuse.

Les scénarios d'usage militaire des toxines botuliques prévoient une contamination par voie orale, c'est-à-dire un empoisonnement de réserves d'eau potable ou de denrées alimentaires, au moment de leur stockage ou dans le cadre de la restauration collective. Ces toxines botuliques pourraient aussi être répan-

dues sous forme d'un aérosol et inhalées par une cible humaine.

En 2005, une étude américaine, dont la publication a entraîné un débat sur l'opportunité de rendre accessibles des données « sensibles », a présenté la modélisation des effets sur l'homme de la contamination d'une chaîne de distribution de lait de vache par la toxine botulique.

De fait, les toxines botuliques ont déjà été utilisées à des fins militaires ou terroristes. Ainsi, au cours du XX<sup>e</sup> siècle, de nombreux États, dont la France, ont développé des programmes militaires biologiques à des fins offensives, dont la plupart incluaient les toxines botuliques. Leur militarisation par l'Irak a été révélée au sortir de la première guerre du Golfe, en 1991, et le Japon a empoisonné, pendant la Seconde Guerre mondiale, des prisonniers chinois de la sinistre Unité 731, en Mandchourie, au cours de l'occupation de la Chine.

Pour l'heure, on ne compte qu'un nombre très faible d'attentats à la toxine botulique, et ils n'ont pas



Stéphane Lemaître (DGA, ministère de la Défense)

Un militaire français en tenue NRBC (nucléaire, radiologique, biologique, chimique), à Djibouti, en 2005.

fait de victime : la secte japonaise Aum Shinrikyo a tenté à plusieurs reprises de répandre à Tokyo des toxines botuliques, de même que des spores d'anthrax, sans succès. En France, la détention, le stockage, le transport, l'exportation d'agents du risque biologique – micro-organismes pathogènes et toxines – font l'objet d'une réglementation stricte, permettant d'établir une traçabilité de ces différents agents. Les maladies qu'ils entraînent sont à déclaration obligatoire.