

MARIE-LUDIVINE CHATEAU-DEGAT

# **PORTRAIT ÉPIDÉMIOLOGIQUE DE LA CIGUATERA DANS LE PACIFIQUE-SUD**

Thèse présentée  
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval  
dans le cadre du programme de doctorat en épidémiologie  
pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

FACULTÉ DE MÉDECINE  
UNIVERSITÉ LAVAL  
QUÉBEC

MARS 2005

© Marie-Ludivine Chateau-Degat, 2005

*« Rien de ce qui se fait n'est l'œuvre d'un seul.  
Il n'est que justice de le souligner »*  
Chanfour, B. 1976

## **Résumé (court)**

La ciguatera est une intoxication consécutive à l'ingestion de poissons d'ambiance corallienne contaminés par une micro-algue. Malgré une connaissance séculaire, l'apparente recrudescence de cette maladie, sa répartition géographique, sa variabilité symptomatique sont autant de points qui restent à éclaircir. Ce projet avait pour objectif de dresser le portrait épidémiologique actuel de cet ichtyosarcotoxisme en Polynésie Française afin d'en améliorer la prise en charge. Nos résultats démontrent que l'incidence de la ciguatera dans cette région est relativement stable. Parmi les facteurs écologiques associés aux variations d'incidence, la modélisation de la floraison de l'algue apparaît par nos analyses comme une avenue prometteuse d'une mise en place d'outils de prévention pour réduire l'incidence. Du point de vue clinique, nos résultats confirment la prédominance des symptômes neurologiques qui évoque une polyneuropathie sensitive se résorbant progressivement dont la gravité paraît reliée à la quantité de toxines ingérées.

## Résumé (long)

Bien que peu connue sous les latitudes tempérées et nordiques, la ciguatera est une intoxication alimentaire tristement célèbre dans les zones tropicales du globe. Consécutivement à l'ingestion de poissons d'ambiance corallienne contaminés par une micro-algue, cette intoxication est connue depuis l'époque des grands explorateurs. Néanmoins, son apparente recrudescence, sa sporadicité géographique, sa variabilité symptomatique en termes de gravité et de persistance sont autant de points qui restent à éclaircir. Ce projet avait pour objectif de répondre aux précédentes interrogations dressant, dans un même temps, le portrait épidémiologique actuel de la ciguatera en Polynésie Française. Ce travail articulé en deux axes principaux décrit cet ichtyosarcotoxisme selon sa dynamique environnementale et temporelle puis, en détail, à l'échelle individuelle, les caractéristiques cliniques. Bien que l'augmentation globale de l'incidence de la ciguatera ait été suggérée dans la littérature, les résultats de notre analyse rétrospective des cas déclarés au cours de la dernière décennie montrent une certaine stabilité de l'incidence en Polynésie Française. Néanmoins, les taux élevés observés dans les archipels reculés nécessitent la mise en place d'outils de prévention pour en réduire l'incidence. La modélisation des liens entre la floraison de l'algue et l'incidence de la maladie apparaît, selon nos analyses, comme une avenue prometteuse. En effet, les résultats de l'analyse rétrospective de 8 années de données écologiques et sanitaires, montrent que la floraison de l'algue productrice des ciguatoxines est temporellement reliée à l'apparition des cas de ciguatera dans la population. Du point de vue clinique, les résultats du suivi de 183 patients confirment la prédominance des symptômes neurologiques dont certains semblent durer jusqu'à 2 mois après le début de l'intoxication. La persistance de ces symptômes paraît reliée au degré de sévérité de la maladie observée en phase aiguë. La caractérisation physiologique de ces symptômes chez 47 patients comparés à 125 témoins sains évoque une polyneuropathie sensitive se résorbant progressivement. En effet, deux mois plus tard, seuls des troubles de la sensibilité tactile et des paresthésies persistent chez près de 50 % des patients interrogés. En somme, les résultats obtenus dans cette thèse de doctorat ont permis de confirmer la présence de symptômes neurologiques au-delà de la phase aiguë dans une population de patients dont l'état général ne nécessitait pas forcément une hospitalisation.

## Abstract

Ciguatera poisoning is an ichthyosarcotoxism found throughout many tropical areas of the world. Even though this intoxication has been known since the 18<sup>th</sup> century, many epidemiological aspects remain unclear. The main goal of this thesis was to establish the epidemiological portrait of this seafood poisoning in order to improve its management. The first part of this project describes this ichthyosarcotoxism according to its environmental and temporal aspects. The second part addresses clinical aspects of the disease.

A global increase of ciguatera incidence has been suggested in the literature. However, results from our retrospective study indicate a relatively constant annual incidence in French Polynesia over the ten years of the study. An analysis of cases grouped by archipelago also revealed differences in incidence rates with the most remote archipelagos having the highest incidence. These high rates observed highlight the need to develop prevention tools in order to reduce the incidence. Results from our model of changes in the incidence of ciguatera disease following algae blooms might be useful for assisting ciguatera risk management initiatives. Indeed, results from the study highlight a clear temporal relation between ciguatera disease and its etiologic agent: *Gambierdiscus* spp.

From a clinical point of view, our results confirm the neurological feature of this intoxication as previously proposed and suggest that several symptoms observed in 183 patients at the acute phase of the disease are still persistent 2 months after the onset. In order to characterize these symptoms, we compared the neurological evaluation of 47 patients with ciguatera disease to 125 ciguatera-free controls. Results showed that ciguatera disease predominantly alters the peripheral sensory system represented mainly by sensory disturbances (light-touch and thermal) and poorer sway performances compared to controls. Over three testing periods, we observed an improvement of sway performances but, light touch threshold remained altered for more than 50% of patient 60 days after of the onset. In summary, results obtained in this thesis confirm the evolution ciguatera disease to chronic stage in the study population and suggest that ciguatera symptoms in acute phase are similar to a sensory polyneuropathy with a progressive recovery.

## Remerciements

En tout premier lieu, je tiens à remercier les personnes de Polynésie Française qui ont participé à cette étude. Leur patience, leur gentillesse et leur assiduité ont permis de mener ce projet à son terme. Mais au-delà, la richesse et l'intensité de mes échanges avec les Polynésiens et Polynésiennes rencontrés au cours de cette étude, m'ont permis de dépasser le cadre académique en donnant une dimension humaine à mon expérience doctorale.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse, le Dr Eric Dewailly pour avoir mis à ma disposition toutes les ressources financières, matérielles et scientifiques nécessaires à ma formation et à la réalisation de ce projet. Le soutien intégral, la confiance et l'optimisme dont il a fait preuve tout au long de mon cheminement doctoral ont été essentiels à l'aboutissement de ce projet. Je remercie tout aussi sincèrement mon co-directeur, le Dr René Verrault pour l'encadrement scientifique et les précieux conseils qu'il m'a offerts tout au long de mes études doctorales. Mes sincères remerciements vont également à mon comité d'encadrement pour sa grande souplesse et sa compréhension face à mes requêtes particulières dues à l'éloignement géographique de mon terrain d'étude.

Je remercie également tout le personnel de l'Institut Louis Malardé pour la gentillesse dont il a fait preuve lors de mes nombreux séjours parmi eux. Merci de m'avoir adoptée. Plus particulièrement, je remercie les personnes avec qui j'ai eu la chance de travailler et sans qui ce travail ne serait certainement pas ce qu'il est, merci au Dr René Chansin, Mme Aurélie Sunara, Mme Marie Solignac, Mme Anne-Sophie Picardo, M. François Hermier, Dr Mireille Chinain, Dr Darius Taina, Dr Anne-Marie Legrand, Mme Catherine Plichard, Dr Cyril Coudert, Dr Frédéric Beau, Dr Marie-Odile Huin-Blondey, Dr Philippe Guglielmetti, Dr Gérard Vauterin, Mme Moea Liao-Toiro, Mme Sylvianne Teururai et Mme Véronique Mou.

Je remercie également tous les médecins du secteur public de la Polynésie Française pour leur participation à cette étude ainsi que le personnel du Centre Inter-Armées de Médecine Préventive qui m'a grandement soutenue lors du recrutement des participants.

Je dois remercier également le « Center for Disease Control » d'Atlanta et l'Organisation Panaméricaine de la Santé pour avoir soutenu financièrement ce projet de recherche et permis, par la même occasion, d'obtenir une bourse doctorale permettant de subvenir à mes besoins durant mes études.

Je remercie tous mes collègues de l'Unité de recherche en santé publique avec qui j'ai passé ces années de doctorat. Je remercie mes amis et parents qui m'ont soutenue, écoutée, encouragée lors de cette longue aventure. Je tiens finalement à remercier mon époux de sa grande patience, de sa compréhension, de son écoute et de son soutien. Merci d'avoir été à mes côtés lors des périodes d'exaltation intense et d'abattement toutes aussi profondes qui jalonnèrent ces quatre dernières années.

# Avant-Propos

## Articles scientifiques

Cette thèse comporte 4 chapitres et une annexe dont chacun fera l'objet d'une publication dans un journal scientifique ayant un comité réviseur composé de pairs. Les paragraphes suivants décrivent la contribution de chacun des auteurs impliqués dans ces travaux.

**Chapitre 2 :** Sea water temperature, *Gambierdiscus* spp. variability and incidence of ciguatera poisoning in French Polynesia.

Chateau-Degat M-L., Chinain M., Darius T., Cerf N., Gingras S., Hubert B., Dewailly E.

Dans cette étude rétrospective, les Drs Chinain et Dewailly ont participé à l'élaboration du projet de recherche et à la recherche de son financement. Le Dr Chinain a réalisé la collecte des données écologiques à l'origine de l'analyse, Madame Cerf a recueilli les données de population. En collaboration avec Madame Gingras, j'ai pris en charge l'analyse des résultats aboutissant à la modélisation présentée dans cette étude. Ma contribution à ce travail a également consisté en la mise en forme des résultats et la rédaction de l'article. Le manuscrit a été révisé par les Drs Chinain, Dewailly et Hubert.

**Chapitre 3:** Temporal trends and epidemiological aspects of ciguatera in French Polynesia: a ten year analysis

Chateau-Degat M-L., Dewailly, E., Cerf N., Nguyen N.L., Chinain M., Darius T., Hubert B., Chansin R.

Les Drs Dewailly, Nguyen, Hubert et Laudon ont participé à l'élaboration du projet de recherche, et les Drs Dewailly et Laudon à la recherche de son financement. Le Dr Nguyen, et Mme Cerf ont réalisé la collecte des données à l'origine de l'analyse. Ma contribution à ce travail a consisté en la réalisation des analyses statistiques, la mise en forme des résultats et la rédaction de l'article. La révision du manuscrit a été réalisée par les Drs Dewailly, Hubert, Chinain, Darius et Legrand.



Les chapitres 4 et 5 de cette thèse sont issus d'un projet de recherche impliquant plusieurs chercheurs de l'Université Laval, de l'Université du Québec à Montréal et de l'Institut Louis Malardé. Les Drs Dewailly, Verreault, Beuter, Laudon, Legrand, Chinain, Darius, Huin-Blondey, Nguyen et Hubert ont ainsi collaboré à l'élaboration du projet de recherche et à la recherche de financement.

**Chapitre 4:** Prevalence of chronic symptoms of ciguatera disease in French Polynesians adults

Chateau-Degat M-L., Chinain M., Darius T., Legrand A-M., Nguyen N.L., Chansin R., Dewailly E.

Outre leur participation sus-citée, les Drs Dewailly, Nguyen, Laudon et Chansin ont également mis à ma disposition la structure et les ressources nécessaires à la réalisation de ce projet. Les Drs Huin-Blondey et Nguyen ont participé à l'élaboration des questionnaires et à la collecte des données. J'ai participé à l'élaboration du protocole de recherche, à la recherche de financement, à l'élaboration des questionnaires et à la collecte des données. J'ai ensuite pris en charge les analyses statistiques des données, la mise en forme des résultats et la rédaction de l'article. La révision du manuscrit a été réalisée par les Drs Dewailly, Hubert, Chinain, Darius et Legrand.

**Chapitre 5:** Neurological signs of ciguatera disease: evidence of their persistency

Chateau-Degat M-L., Beuter A., Guglielmetti P., Legrand A-M., Chinain M., Darius T., Nguyen N.L., Chansin R., Dewailly E.

Comme précédemment, les Drs Dewailly, Nguyen, Beuter, Laudon et Chansin ont participé à l'élaboration du projet de recherche et à la recherche de son financement. Ils ont également mis à ma disposition la structure et les ressources nécessaires à la réalisation de ce projet. Les Drs Guglielmetti, Legrand, Chinain, Darius et Nguyen ont participé à la collecte des données. Le Dr Nguyen et moi-même, avons élaboré les questionnaires et la grille standardisée des tests neurologiques. Le Dr Beuter a collaboré au choix des outils neurologiques et à la formation du personnel de recherche. J'ai participé à l'élaboration du

protocole de recherche, à la recherche de financement, à la formation du personnel et à la collecte des données. J'ai ensuite pris en charge les analyses statistiques des données, la mise en forme des résultats et la rédaction de l'article. La révision du manuscrit a été réalisée par les Drs Dewailly et Beuter.

**Annexe : Les toxines marines : problèmes de santé en émergence**

Chateau-Degat M-L., (2003) Les toxine marines : problèmes de santé en émergence VertigO, 4,1 :1-11.

Cet article de revue de la littérature est le point de départ de ma thèse de doctorat. Même si mon seul nom apparaît, il est important de souligner que mon directeur de recherche, le Dr Dewailly, est à l'origine de la réalisation de cette revue.

**Autres communications scientifiques**

En plus des articles susmentionnés, j'ai présenté les résultats de mon doctorat sous forme d'affiches et de présentation orale dans le cadre de congrès internationaux. En plus d'avoir participé à l'analyse et l'interprétation des divers résultats, j'ai préparé et présenté les communications listées ci-dessous.

**Présentation orale**

M-L. Chateau-Degat, M-O. Huin-Blondey, N.L. Nguyen, C. Rubin, L. Backer, É. Dewailly (Novembre 2004) "Chronic symptoms experienced in ciguatera disease: first assessment of survival curve" *XI<sup>th</sup> HAB conference, 2004*, Cape Town.

**Affiches**

M-L. Chateau-Degat, P. Guglielmetti, G. Vauterin, A-M. Legrand, M. Chinain, T. Darius, A. Beuter, É. Dewailly (Novembre 2004) "Neurological signs of ciguatera disease" *XI<sup>th</sup> HAB conference, 2004*, Cape Town.

M-L. Chateau-Degat, M. Chinain, N. Cerf, B. Hubert, F. Laudon, É. Dewailly (Novembre, 2002) “Temporal link between ciguatera disease and *Gambierdiscus* spp. in French Polynesia”; *X<sup>th</sup> HAB conference, 2002*, Florida.

M-L Chateau-Degat, N. Cerf, N. L. Nguyen, M-O. Huin-Blondey, B. Hubert, F. Laudon, É. Dewailly (Novembre, 2002) “Incidence and description of ciguatera in French Polynesia”. *X<sup>th</sup> HAB conference, 2002*, Florida.

M-L. Chateau-Degat, É. Dewailly, M-O. Huin-Blondey, A-M. Legrand, N.L. Nguyen, M. Chinain, T. Darius, R. Verreault, A. Beuter, B. Hubert, F. Laudon (Novembre, 2002) “Chronic neurological effects of ciguatera poisoning: an ongoing study” *X<sup>th</sup> HAB conference, 2002*, Florida.

# Table des matières

|  |    |
|--|----|
| CHAPITRE 1 : Introduction générale .....   | 1  |
| La ciguatera: une intoxication ni nouvelle, ni rare .....  | 2  |
| La ciguatera et ses manifestations cliniques .....   | 6  |
| Le tableau clinique.....   | 6  |
| La pharmacopée.....  | 11 |
| La ciguatera et son agent étiologique: les ciguatoxines.....   | 12 |
| Hypothèses et objectifs de recherche.....  | 17 |
| Une recherche adaptée au milieu .....  | 22 |
| La Polynésie Française .....   | 22 |
| Devis d'études.....  | 23 |
| CHAPITRE 2 : Sea water temperature, <i>Gambierdiscus</i> spp. variability and incidence of ciguatera poisoning in French Polynesia ..... | 25 |
| Résumé.....  | 25 |
| Abstract.....  | 26 |
| Introduction.....  | 27 |
| Materials and Methods.....   | 28 |
| Data collection .....  | 28 |
| Statistical analysis.....  | 30 |
| Results.....   | 31 |
| Effect of SWT on <i>Gambierdiscus</i> spp. density.....  | 33 |
| Relation between <i>Gambierdiscus</i> spp. densities and case reports of ciguatera .....   | 35 |
| Discussion.....  | 37 |
| Acknowledgments .....  | 42 |
| CHAPITRE 3: Temporal trends and epidemiological aspects of ciguatera in French Polynesia: a ten year analysis .....                      | 43 |
| Résumé.....  | 43 |
| Abstract.....  | 44 |
| Introduction.....  | 45 |
| Population and Methods .....   | 46 |
| Case records .....   | 46 |
| Statistical analysis.....  | 47 |
| Results.....   | 48 |
| Incidence Trend .....  | 48 |
| Clinical records .....   | 50 |
| Discussion.....  | 53 |
| Acknowledgments .....  | 56 |
| CHAPITRE 4 : Prevalence of chronic symptoms of ciguatera disease in French Polynesians adults.....                                       | 57 |
| Abstract.....  | 58 |
| Introduction.....  | 59 |
| Subject and method.....  | 60 |
| Parameters recording at the time of onset.....   | 61 |
| Parameters recording during the follow-up .....  | 63 |

|  |     |
|--|-----|
| Data analysis .....  | 63  |
| Results.....   | 64  |
| Acute phase (time of the onset) .....  | 64  |
| Follow-up of chronic symptoms .....  | 68  |
| Discussion.....  | 72  |
| Acknowledgments .....  | 75  |
| CHAPITRE 5 :Neurological signs of ciguatera disease: evidence of their persistency ..... | 76  |
| Résumé.....  | 76  |
| Abstract.....  | 77  |
| Introduction.....  | 78  |
| Subject and methods .....  | 79  |
| Protocol.....  | 79  |
| Neurological evaluation.....   | 80  |
| Motor evaluation.....  | 81  |
| Light touch threshold exploration.....   | 83  |
| Blood sample .....   | 84  |
| Data analysis .....  | 84  |
| Results.....   | 85  |
| Acute symptoms and signs of ciguatera disease.....                                       | 85  |
| Follow-up of symptoms and signs of ciguatera disease .....                               | 90  |
| Neurological examination.....  | 90  |
| Light touch threshold.....   | 91  |
| Hand coordination.....   | 91  |
| Postural sway .....  | 92  |
| Discussion.....  | 95  |
| Acknowledgments .....  | 98  |
| CHAPITRE 6: Discussion générale.....   | 99  |
| Bibliographie .....  | 110 |
| Appendice 1:Questionnaires .....   | 133 |
| Appendice 2:Grille d'évaluation neurologique.....  | 141 |
| Appendice 3: Problèmes de santé en émergence associés aux toxines marines.....           | 145 |
| Résumé.....  | 145 |
| Introduction.....  | 146 |
| Aujourd'hui, les bio toxines présentes dans l'environnement marin.....                   | 148 |
| Acide domoïque.....  | 149 |
| Acide okadaïque .....  | 150 |
| Brévéttoxine.....  | 150 |
| Saxitoxine .....   | 151 |
| Térodotoxine.....  | 152 |
| Ciguatoxine.....   | 153 |
| A chaque bio toxine marine son intoxication !.....                                       | 154 |
| Intoxication amnésiques par les fruits de mer (IAFM).....                                | 154 |
| Intoxication Diarrhéiques par les fruits de mer (IDM) .....                              | 155 |
| Intoxication neurologique par les fruits de mer (INFM) .....                             | 155 |
| Intoxication paralysante par les fruits de mer (IPFM).....                               | 156 |
| Les intoxications à l'histamine .....  | 156 |

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| Térodotoxine (TTX) .....             | 157 |
| Syndrome associé aux Pfiesteria..... | 158 |
| Ciguatera.....                       | 158 |
| Facteurs environnementaux .....      | 161 |
| Références.....                      | 164 |

## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1 : Tableau récapitulatif de l'incidence de la ciguatera dans le monde .....  | 6  |
| Tableau 2 : Tableau clinique de la ciguatera .....  | 7  |
| Tableau 3: Synthèse des caractéristiques chimiques des divers types de ciguatoxines et des maitotoxines.....  | 15 |
| Tableau 4: Descriptive statistics of variables of interest from 1993 through 1999, and for cool and hot seasons respectively. ....  | 33 |
| Tableau 5: Transfer models linked to seawater temperature impact on dinoflagellate growth (Model 1), and dinoflagellate cell fluctuations impact on declared cases of ciguatera (Model 2). .... | 34 |
| Tableau 6: Incidence rates per 10 000 person-year of ciguatera disease recorded from 1992 to 2001 according to archipelago and the whole territory .....  | 48 |
| Tableau 7: Symptom frequency reported by patients (in percentage, by gender) .....  | 52 |
| Tableau 8: Demographic, anthropometric, social and epidemiologic characteristics of the study population according to scale of severity of the disease at the onset.....                        | 66 |
| Tableau 9: Prevalence of symptoms experienced by patients in the acute phase of the disease (0-7 days after ingestion of toxic meal) .....  | 67 |
| Tableau 10: Odds ratios of the severity (light, mild, severe) of ciguatera disease in the acute phase according to risk factors.....  | 68 |
| Tableau 11: Odds ratio of the persistence scale of symptoms recorded during the follow-up (Asymptomatic to severely affected) according to factors recorded 7 days before each interview .....  | 71 |
| Tableau 12: Definitions of characteristics selected for the analysis.....   | 82 |
| Tableau 13: Description of demographic, lifestyle characteristics of exposed and unexposed participants at the time of onset (T0).....  | 87 |
| Tableau 14: Neurological evaluation exposed and unexposed participants at T0.....   | 88 |
| Tableau 15:Light touch threshold exposed and unexposed participants at T0.....  | 88 |
| Tableau 16: Manual coordination exposed and unexposed participants at T0.....   | 89 |
| Tableau 17: Sway evaluation exposed and unexposed participants at the time of onset.....  | 90 |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| Figure 1: Répartition géographique de la ciguatera dans le monde de 1983 à 2003. ....   | 5  |
| Figure 2: Schéma général de transfert des toxines responsables de la ciguatera à travers la chaîne alimentaire .....  | 13 |
| Figure 3: Conformation des ciguatoxines et des maitotoxines en solution. Les atomes de carbone sont représentés en gris, l'hydrogène en bleu clair, oxygène en rouge, le chlore en vert, l'azote en bleu foncé et le soufre en jaune. Extrait de Yasumoto, 2001. ....   | 16 |
| Figure 4 : Carte de la Polynésie Française.....   | 23 |
| Figure 5: Geographic location of Atimaono barrier reef in Papara's district and three clinics under study on Tahiti Island, French Polynesia. Map adapted from Chinain <i>et al.</i> 1999 <sup>168</sup> .....  | 29 |
| Figure 6: Modeling of <i>Gambierdiscus</i> spp. cell densities from February 1993 to December 2001 in the Papara district as a function of seawater temperature. The thin solid line represents data on density measured during the study period; the thick solid line represents densities estimated by the transfer model, whereas the dashed line represents forecasts of <i>Gambierdiscus</i> spp. cell density from January 2000 to December 2001. ....  | 36 |
| Figure 7: Modeling of cases of ciguatera from February 1993 to December 2001 in the Paea-Papara-Mataiea district as a function of <i>Gambierdiscus</i> spp. cell density. The thin solid line represents cases of ciguatera recorded during the study period, the thick solid line represents cases of ciguatera estimated by the transfer model, whereas the dashed line represents forecasts of cases of ciguatera from January 2000 to December 2001. .... | 37 |
| Figure 8: Time trends of incidence of ciguatera in French Polynesia by archipelago, 1992-2001. Rates are age-adjusted to the entire French Polynesian population.....   | 49 |
| Figure 9: Specific incidence rates of ciguatera in French Polynesia by archipelago and season (all were significantly different at $p < 0.05$ ) .....   | 50 |
| Figure 10: Proportion of patients according to scale of symptoms experienced over a 2-month periods (n: number of patients included in each phase). ....  | 69 |
| Figure 11: Prevalence of symptoms of ciguatera disease over a 2-month period (0: at onset, 2: 15 days, 8: two months later).....  | 70 |
| Figure 12: Hand and feet sites in Semmes-Weinstein monofilaments examination.....   | 83 |
| Figure 13: Comparison of neurological examinations between unexposed and exposed participants *: $p < 0.05$ ; I-XII: Cranial nerves; §: Bone, tendon reflex. Yellow bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars: 2 months after the onset.....   | 92 |
| Figure 14: Comparison of light-touch threshold between unexposed and exposed participants, *: $p < 0.001$ ; Yellow bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars: 2 months after the onset.....  | 93 |
| Figure 15: Comparison of sway performances between unexposed and exposed. a: sway area in $\text{mm}^2$ ; b: other parameters tested by sway plate; c: $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ; *: $p < 0.05$ . All means and p values were adjusted for sex, age and regular physical activity. Yellow  |    |



bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars:  
2 months after the onset ..... 94

# Glossaire

## Allodynie

Douleur résultant d'une stimulation non nociceptive (c'est-à-dire ne provoquant habituellement pas de douleur) <sup>1,2</sup>.

## Ataxie

Perturbation motrice résultant de la dégradation des notions de position et de mouvement provenant normalement de la sensibilité articulaire. L'absence du contrôle de la vue augmente l'ataxie. La symptomatologie se manifeste dans le talonnement de la marche, l'instabilité au demi-tour, l'instabilité et la chute non latéralisée à l'épreuve de la station debout et pieds joints, les yeux fermés (signe de Romberg), les manœuvres doigt-nez et talon-genou, la chute de la main tendue lors de la fermeture des yeux. Elle est attribuable à une défaillance du contrôle sensitif du geste <sup>3</sup>.

## Arthralgie

Douleur articulaire sans lésion appréciable de l'articulation <sup>4</sup>.

## Bradycardie

Ralentissement du rythme cardiaque. La bradycardie est caractérisée par un nombre de contractions par minute qui est inférieur à 60. La bradycardie peut être physiologique ou pathologique. Elle peut être totale, sinusale ou nodale ou due à un bloc auriculo-ventriculaire <sup>4</sup>.

## Dysesthésie

Diminution ou une exagération de la sensibilité provoquée par l'effleurement <sup>5,4</sup>.

## Dyspareunie

Douleur pendant le coït chez la femme sans contracture de la vulve <sup>4</sup>.

### Dysurie

Troubles de la miction. La dysurie est provoquée par l'existence d'un obstacle à l'évacuation des urines, qui peut entraîner une vidange incomplète avec résidu vésical après miction. L'adénome prostatique, la sclérose du col vésical, le rétrécissement de l'urètre, l'hypertonie du sphincter strié sont les causes obstructives les plus fréquentes de dysurie. Plus rarement, celle-ci peut être due à un dysfonctionnement neurologique de la vessie (paralysie avec atonie du muscle vésical). Une dysurie se manifeste par des mictions lentes, pénibles, en plusieurs temps, avec nécessité de forcer pour évacuer le contenu de la vessie <sup>6</sup>.

### Hypertension artérielle (H.T.A)

Élévation anormale, permanente ou paroxystique de la tension artérielle au repos. La pression sanguine s'élève anormalement en réponse à l'activité physique. L'H.T.A. apparaît lorsque au repos, les chiffres dépassent 16 centimètres de mercure pour la pression maximale ou systolique, et 9 pour la pression minimale ou diastolique. Il n'existe pas d'hypertension lorsque le chiffre de la pression minimale est inférieur à 9; les hypertensions purement systoliques sont surtout émotives ou liées au stress. Par ailleurs, ces seuils peuvent être dépassés chez une personne âgée, car la pression sanguine augmente avec l'âge. À l'inverse, chez un enfant, ces chiffres sont inférieurs <sup>6</sup>.

### Hypotension artérielle

Diminution de la tension artérielle. L'hypotension artérielle est caractérisée par l'abaissement de la pression systolique au-dessous de 10 centimètres de mercure. Certaines personnes ayant un système cardiovasculaire normal ont cependant une tension artérielle inférieure à la moyenne (celle-ci étant relative à chaque âge de la vie). Le terme d'hypotension artérielle est en général réservé au cas où la tension artérielle chute au point d'entraîner des symptômes tels que des étourdissements ou des évanouissements <sup>6</sup>.

### Myotonie

Trouble du tonus musculaire caractérisé par la lenteur et la difficulté de la décontraction au cours des mouvements volontaires, les mouvements passifs étant libres : les muscles

atteints présentent la réaction myotonique et l'électromyogramme montre des salves de potentiels apparaissant brusquement et dont l'amplitude et la fréquence diminuent progressivement (décharge myotonique provoquée par l'excitation musculaire, le froid, etc.)<sup>4</sup>.

### Paresthésie

Anomalie de la perception des sensations consistant en retard, persistance, erreurs de localisation et des excitations tactiles, douloureuses thermiques ou vibratoires. Sensations pénibles variées survenant sans causes apparentes, telles que des fourmillements, engourdissements, picotements, chaleur ou froid, constriction localisée, ruissellement de liquide, impression de marcher sur du coton, etc.<sup>5,4</sup>.

### Prurit

Troubles fonctionnels des nerfs de la peau, produisant des démangeaisons et ne dépendant pas de lésions cutanées prémonitoires appréciables<sup>4</sup>.

### Nystagmus

Mouvements oscillatoires et quelquefois rotatoires du globe oculaire. Ces mouvements sont involontaires, saccadés, horizontaux, verticaux ou quelquefois de circumduction. Ils sont congénitaux ou symptomatiques d'une lésion acquise des centres nerveux<sup>4</sup>.

### Ophtalmoplégie

Paralysie des muscles de l'œil. Quand tous les muscles (extrinsèques et intrinsèques) sont paralysés, on lui donne le nom d'ophtalmoplégie double (très rare)<sup>4</sup>.

### Tachycardie

Accélération du rythme des battements cardiaques. La tachycardie est modérée quand les pulsations sont de 80 à 100 par minute, intense quand elles dépassent 100. Elle peut être symptomatique (d'origine infectieuse, toxique, cachectique, nerveuse cardiovasculaire) ou essentielle<sup>4</sup>.

# **CHAPITRE 1 : Introduction générale**

## **La ciguatera: une intoxication ni nouvelle, ni rare**

Les ichtyotoxismes sont par définition des intoxications consécutives à l'ingestion ou au contact de poisson. Ce terme générique rassemble plus précisément trois grands types de toxicité pisciaire classés suivant la distribution de l'agent toxique (bactérie ou toxine) dans les compartiments biologiques des poissons <sup>7</sup>. Ainsi, aux ichtyo-hémotoxismes correspondent les intoxications dans lesquelles la substance toxique est véhiculée dans le compartiment sanguin. Généralement, les poissons incriminés dans ce type d'intoxication sont des congres, des anguilles et même parfois des murènes <sup>8</sup>. La seconde classe d'intoxication appelée ichtyo-otoxisme est provoquée par l'ingestion d'œufs, de gonades ou de laitance de poisson. Le saumon, la carpe et l'esturgeon sont les poissons les plus souvent associés à ce type d'intoxication <sup>8</sup>. Enfin, l'ichtyosarcotoxisme identifie la troisième classe d'intoxication dans laquelle l'agent toxique se distribue dans tous les compartiments biologiques, sanguins, tissulaires, hépatiques, cérébraux, etc. Cette dernière classe regroupe plusieurs sous-types d'intoxications telles l'intoxication clupéide par les harengs et les sardines <sup>9,8</sup>, l'intoxication de type histaminique due aux poissons du large mal conservés <sup>9,8</sup>, l'intoxication par les tétrodoxines induite par les poissons de type poisson-lune <sup>9,10,8</sup> et finalement l'intoxication de type ciguatera <sup>11,8</sup>.

Concernant ce dernier sous-type, il est admis que la ciguatera est provoquée par l'ingestion de poissons frais d'ambiance corallienne et appartenant habituellement aux espèces comestibles contaminées par des toxines d'origine marine: les ciguatoxines (CTXs). La ciguatera est associée à une pléthore de symptômes regroupés en trois grands types de troubles neurologiques, gastro-intestinaux et cardiaques <sup>12,11</sup>.

Parmi les intoxications imputées aux aliments d'origine marine, la ciguatera est, avec l'intoxication de type histaminique, la plus répandue au niveau mondial <sup>13</sup>. Mais c'est aussi en raison de sa sporadicité et de sa répartition tropicale la moins connue sous nos latitudes. Pourtant, depuis le VII<sup>e</sup> siècle marquant le premier empoisonnement mortel en Chine, consécutif à l'ingestion de « carangue à queue jaune », cet ichtyosarcotoxisme n'a cessé d'être rapporté au fil de l'histoire en Mer rouge, dans les Caraïbes et dans le Pacifique <sup>14</sup>.

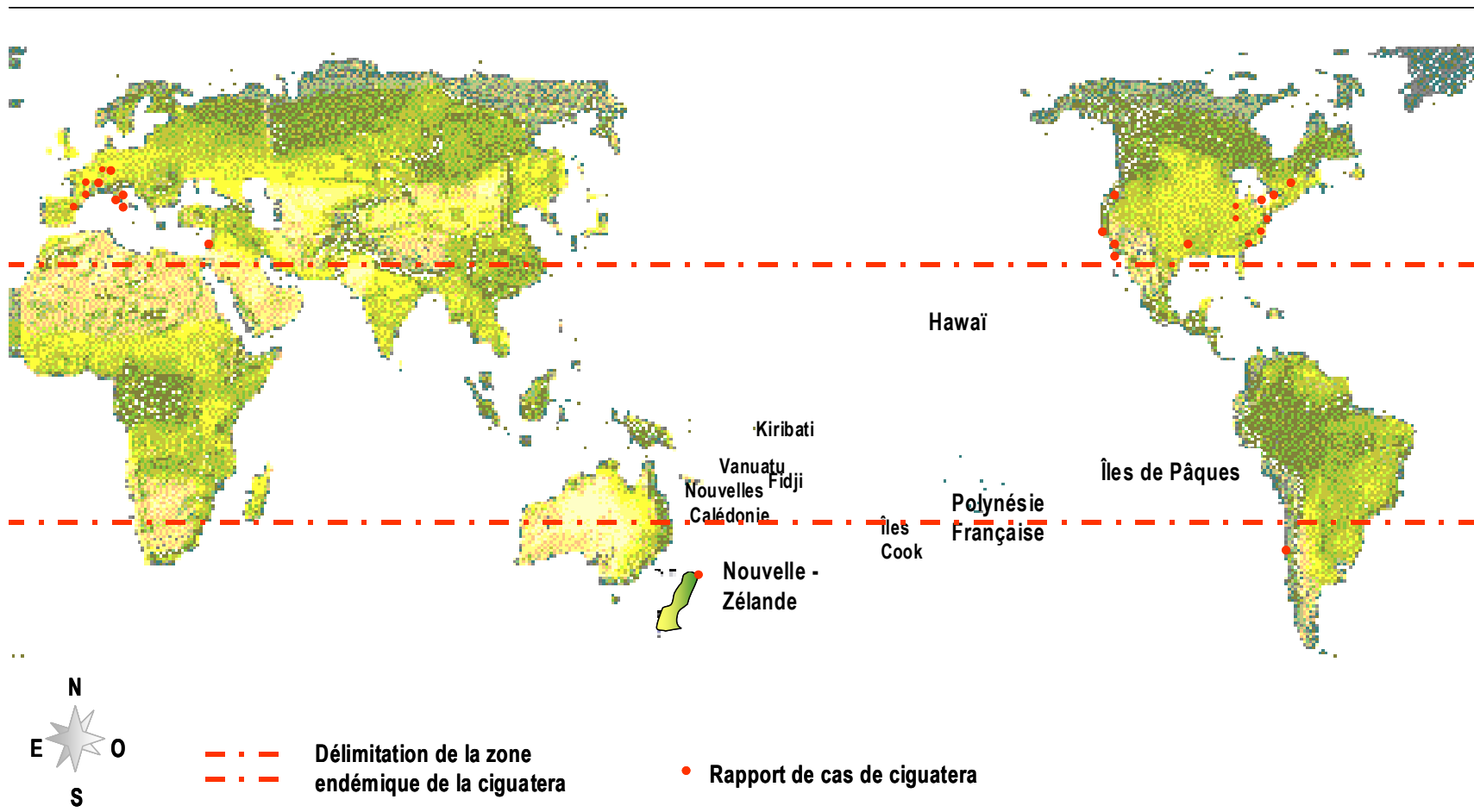
Les premiers rapports détaillés datent de l'ère des grands explorateurs où les équipages de Fernandez de Queiros, de Cook ou du Lieutenant chirurgien William Anderson, en firent la mauvaise expérience <sup>14,15</sup>. Il fallut cependant attendre la fin du 19<sup>e</sup> siècle pour que cette intoxication soit nommée « ciguatera » par l'ichtyologiste Poey. Ce nom dérive du nom cubain « cigua » donné à un mollusque marin *Cittarium picum* dont l'ingestion provoque des troubles digestifs importants <sup>14,11</sup>.

Depuis, il a été établi que la ciguatera est endémique dans la zone délimitée par le 35<sup>e</sup> degrés parallèle nord et le 35<sup>e</sup> degrés parallèle sud <sup>16</sup> tel qu'identifié à la figure 1. Toutefois, cette intoxication est signalée de manière croissante dans des régions qui en étaient jusqu'à présent exemptes (figure 1). Cette nouvelle situation semble être due à l'engouement du tourisme vers les zones chaudes du globe ou encore par l'importation de poissons tropicaux qui trouvent de plus en plus d'amateurs <sup>17</sup>. En Europe, la ciguatera a été documentée en Allemagne, en France, en Espagne et en Italie <sup>18,19</sup>. Généralement, ces intoxications survenaient chez des voyageurs internationaux exposés à la toxine au moment de leur séjour en régions tropicales. Toutefois, récemment dans l'est de la Méditerranée, des cas d'intoxication ont été signalés suite à l'ingestion de poissons pêchés dans ces eaux <sup>20,21</sup>. En Amérique du Nord, la ciguatera a également été rapportée à plusieurs reprises au Canada <sup>22-26</sup>, mais sans communes mesures avec les États-Unis qui se sont vus obligés d'intégrer cette intoxication dans leur système de déclaration obligatoire des maladies <sup>27</sup>. En effet, cette intoxication a été rapportée sporadiquement dans plusieurs états tels le Vermont, le Rhode-Island <sup>27</sup>, l'Illinois, la Californie <sup>28,29</sup>, le Texas, le Massachusetts, la Louisiane, et la Floride <sup>30</sup> et Hawaï <sup>31</sup> sont les zones les plus durement affectées par la ciguatera en raison de leur géographie.

Comme le souligne Juranovic et Park <sup>16</sup>, l'incidence de la ciguatera croît avec la décroissance de la latitude, le Pacifique sud se plaçant au premier rang, la Polynésie Française en tête (Tableau 1). Dans les régions endémiques, la ciguatera présente une incidence annuelle variable selon les pays (Tableau 1) oscillant de 10 à 900 pour 100 000 personnes-année <sup>32,33</sup>. Vers la fin des années 80, Lewis <sup>34</sup> estimait que cette intoxication avait une incidence de 97/100 000 personnes-année dans l'ensemble du Pacifique. Selon ce

même chercheur, il semblerait que les variations d'incidence soient dues à la disponibilité des denrées alimentaires commerciales différentes d'une région à l'autre <sup>34</sup>. Toutefois, la ciguatera est reconnue pour être une intoxication alimentaire substantiellement sous-déclarée. Ting *et al.*, en 1998, précisent que cette sous-déclaration est imputable tant aux patients, aux médecins, qu'aux autorités sanitaires des divers pays <sup>35</sup>. Par exemple, dans le Pacifique Sud, où l'ichtyosarcotoxisme est une maladie à déclaration volontaire depuis 1974 <sup>36</sup>, le Secrétariat Général de la Communauté du Pacifique estime que les statistiques annuelles officielles signalent environ 10 à 20 % des cas de ciguatera réellement survenus <sup>37</sup>. De surcroît, comme le souligne très justement Fleming *et al.* <sup>27</sup>, cette sous estimation serait également accrue par le calcul même de l'incidence. En effet, ces calculs d'incidence sont basés sur la population entière et non sur la population à risque représentée par les consommateurs réguliers de poissons tropicaux <sup>27</sup>. Néanmoins, de son côté, Bruslé en 1997, estime entre 10 000 et 50 000 le nombre de victimes atteintes de ciguatera dans le monde par année <sup>38</sup>. Ce nombre comprend les individus qui vivent dans les zones tropicales et subtropicales à risque pour la ciguatera, mais également les touristes de passage dans ces zones.





Adaptée ©Intercarto-2000

Figure 1: Répartition géographique de la ciguatera dans le monde de 1983 à 2003.

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de l'incidence de la ciguatera dans le monde

| Région  | Taux d'incidence<br>(100 000 personnes*année) | Période<br>d'évaluation | Référence |
|---|---|-------------------------|-----------|
| <b><i>Caraïbes *</i></b>                        | 10 à 900                                      | 2001                    | 39        |
| Puerto Rico                                     | 900   | 1980-1982               | 40        |
| Antilles Françaises                             | 210   | 1999                    | 41        |
| îles Cayman                                     | 43  | 1983                    | 33        |
| Martinique                                      | 41  | 1983                    | 33        |
| îles Saintes                                    | 300   | 1960-1980               | 42        |
| îles Vierges                                    | 730   | 1982                    | 43        |
| Miami   | 50  | 1980                    | 44        |
| <b><i>Pacifique Sud*</i></b>                    | 97  | 1973-1983               | 34        |
| Polynésie Française                             | 545   | 1973-1983               | 34        |
| Kiribati, Nouvelle Calédonie, Les îles Marshall | 10 à 50                                       | 1994                    | 33        |
| Vanuatu   | 460   | 1988                    | 45        |
| Australie                                       | 30  | 1965-84                 | 46        |
| Hawaï   | 8,7   | 1985-1989               | 47        |
| <b><i>Océan indien et Asie</i></b>              |   |                         |           |
| îles de la Réunion                              | 7,8   | 1986-94                 | 48        |

\*Estimation moyenne dans la région

## La ciguatera et ses manifestations cliniques

### Le tableau clinique

Si des incertitudes demeurent quant à l'estimation exacte de l'incidence de la ciguatera, la symptomatologie de cette maladie est, quant à elle, largement décrite dans la littérature médicale. Ainsi, il est reconnu que cette intoxication est associée à une pléthore de symptômes survenant au plus tard trente heures après l'ingestion de poissons contaminés par des ciguatoxines (Tableau 2). Jusqu'à présent, le diagnostic de la ciguatera se fonde principalement sur le tableau clinique très caractéristique qui regroupe trois principaux types de symptômes tels les troubles neurologiques, gastro-intestinaux et cardiaques. Dans ce tableau, des signes plus atypiques sont également retrouvés et sont, en général, associés à des complications médicales découlant de pathologies antérieures<sup>49-52</sup>. Néanmoins, la létalité consécutive à la ciguatera est faible (<0,1%)<sup>53</sup>. Les mortalités recensées sont essentiellement dues à de sévères déshydratations, des complications cardiaques ou respiratoires<sup>54</sup>.

Tableau 2 : Tableau clinique de la ciguatera

| <b>Système affecté</b>          | <b>Type de symptômes et signes cliniques</b>   | <b>Temps d'apparition et durée</b>  |
|---------------------------------|--|---|
| <b>Gastro-intestinal</b>        | hyper salivation, nausées, crampes abdominales, vomissements, diarrhée   | Symptomatologie commune<br>Phase aiguë-Disparition en 48 h  |
| <b>Neurologique</b>             |  |   |
| Psychologie et cognition        | délire, confusion mentale, dépression  | Symptomatologie commune<br>Phase aiguë apparaissant plus tardivement que les troubles gastro-intestinaux.<br>Ils peuvent perdurer jusqu'à un an après la phase aiguë de la maladie. |
| Moteur                          | ataxie, arrêt respiratoire, diminution des réflexes, faiblesse des membres inférieurs et supérieurs  |   |
| Sensoriel                       | paresthésie, dysesthésie, asthénie, maux de tête, douleur rétrobulbaire, nystagmus verticale et horizontale, ophtalmoplégie interne et externe, dissymétrie oculaire, douleurs dentaires, photophobie, vertiges, goût métallique dans la bouche, vision trouble, prurit, dyspareunie, douleur à l'éjaculation, dysurie |   |
| <b>Cardiovasculaire</b>         | hypotension, bradycardie, tachycardie, anomalies de l'onde T   | Symptomatologie rare<br>Phase aiguë- Disparition en 5 jours   |
| <b>Symptomatologie générale</b> | fièvre, sudation, perte de cheveux, perte d'ongle, acné, rigidité cervicale, conjonctivite, lésion cutanée « skin rash », malaise vagal  | Symptomatologie rare<br>apparition variable<br>Aucune information quant à leur durée  |

Dans la chronologie classique de la ciguatera, il semble que les troubles gastro-intestinaux soient les premiers à survenir et les premiers à disparaître dans un laps de temps inférieur à 48 heures<sup>55,29</sup>. Parmi ces signes, les patients se plaignent de crampes abdominales, de nausées, de diarrhée et de vomissements; la diarrhée étant le symptôme rapporté dans plus de 70 % des cas<sup>56</sup>. Au vu de l'importance des symptômes gastro-intestinaux dans cette intoxication, des études sur le modèle animal se sont penchées sur l'entérotoxicité des ciguatoxines<sup>57,58</sup>. Ainsi, Terao et al. (1991)<sup>58</sup> ont montré que chez la souris, une intoxication aux ciguatoxines (CTX-1B) induit une diarrhée profuse, sans altération morphologique de la muqueuse intestinale, améliorée par un traitement à l'atropine témoignant d'une hyperactivité cholinergique. Ito *et al.*<sup>59</sup> ont montré chez le rat, que le potentiel diarrhéique des ciguatoxines était de 1300 à 8500 fois supérieur à celui de la toxine cholérique. Ils ont également démontré que les CTXs accélèrent la sécrétion de

mucus du gros intestin, le péristaltisme du colon et stimulaient la contraction du rectum à l'origine des diarrhées profuses observées<sup>59</sup>. Auparavant, Fasano<sup>57</sup> a suggéré une intervention des ions calciques libres dans ce processus en tant que médiateur intracellulaire.

Les symptômes neurologiques sont, en général, ressentis dans les heures suivant l'ingestion<sup>15</sup>. Au niveau neurologique, les symptômes pathognomoniques d'une ciguatera aiguë sont les paresthésies accompagnées de dysesthésies<sup>53,15</sup>. Les paresthésies décrites sont communément rapportées comme des picotements gênants au niveau des extrémités, de la bouche et du pharynx<sup>60</sup>. Les dysesthésies sont classiquement reliées à une perturbation de la sensibilité thermique qui provoquent chez les patients intoxiqués des sensations de brûlures au contact d'objets froids<sup>28,53,15</sup>. Au niveau physiologique, des études électrophysiologiques, expérimentales et cliniques ont permis de relier ces symptômes à la sensibilité des fibres myélinisées de forts et de faibles calibres envers les CTXs<sup>61-64</sup>. Cette sensibilité se manifeste par un ralentissement des paramètres de conduction nerveuse directement corrélé avec les neuropathies périphériques observées lors de cette intoxication<sup>61,62</sup>. Toutefois, le mécanisme exact par lequel les CTXs induisent un ralentissement de la vitesse de conduction nerveuse est encore obscur<sup>65,63</sup>. Tout ceci conduit certains auteurs tels que Pearn, en 2001,<sup>15</sup> à qualifier les manifestations neurologiques de la ciguatera, de dramatiques et d'énigmatiques.

Au niveau cellulaire, des études expérimentales ont permis de relier les troubles neurologiques observés aux affinités spécifiques des ciguatoxines pour les canaux sodiques essentiels à la genèse et la propagation de l'influx nerveux<sup>66</sup>. En effet, les CTXs se fixent de manière quasi irréversible aux sites 5 des récepteurs des canaux sodiques membranaires et empêchent la fermeture de ces canaux<sup>67,68,65,69-72</sup>. Il résulte de cette fixation, une libération répétitive et spontanée de potentiels d'actions marquées par des oedèmes localisés au niveau du nœud de Ranvier des axones myélinisés<sup>73,68,65,69-72,74</sup>. Les œdèmes observés sont dus à un déséquilibre ionique au niveau de la cellule<sup>66,75</sup>. Outre ces perturbations, la fixation de cette toxine provoque une hyperexcitabilité de la cellule nerveuse traduite par une libération massive de neurotransmetteurs<sup>73,60,68,65,70-72,76</sup>. Ainsi en

présence de ciguatoxines, la cellule donne naissance à des salves de potentiels d'actions sans que la fibre nerveuse ne soit stimulée électriquement<sup>66,74</sup>.

Contrairement aux signes gastro-intestinaux, il a été rapporté que les troubles neurologiques perduraient dans le temps, de quelques semaines jusqu'à un an après l'intoxication<sup>54,77,15</sup>. Il semble cependant que le moment de leur disparition varie d'un individu à l'autre<sup>77,78,15</sup>. La durée de la convalescence, suite à une intoxication sévère, dépendrait de la régénération de nouveaux récepteurs sodiques<sup>15</sup>.

Toujours dans le cadre de la symptomatologie caractéristique de la ciguatera, la littérature fait état, chez l'humain, de cas d'hypotension, de bradycardie sinusale régulière ou irrégulière<sup>79,80</sup> et plus rarement de tachycardie<sup>81,80</sup>. Par ailleurs, des modifications au niveau de l'onde T ont également été mesurées, mais ces anomalies ne sont pas clairement élucidées<sup>82</sup>. Cependant, la fréquence d'apparition de ces troubles n'est pas identique dans toutes les régions endémiques contrairement aux affections neurologiques et gastro-intestinales précédemment présentées. En effet, les symptômes cardiaques sont ressentis dans 10 à 50 % des cas dans les Caraïbes, par 10 à 15 % dans les archipels du Pacifique<sup>54</sup> et rarement en Australie<sup>80</sup>. Toutefois, nombre d'auteurs s'accordent pour dire que les symptômes cardiaques sont observés dans les cas de ciguatera les plus sévères<sup>28,83</sup>.

Au vu de l'ensemble des études réalisées sur le potentiel cardiotoxique des CTXs, il apparaît que ces substances exercent une action complexe sur le système cardiocirculatoire<sup>84</sup>. À ce titre, le texte de Marquais et Sauviat fournit une revue extrêmement détaillée et précise des divers travaux effectués sur la question<sup>84</sup>. En général, les diverses études réalisées sur le muscle cardiaque plaident en faveur d'une double action directe et indirecte des CTXs. L'action indirecte serait attribuable à une libération de noradrénaline et d'acétylcholine par le système sympathique et parasympathique qui innerve le cœur et régularise le rythme cardiaque<sup>85,82,84,86</sup>. L'action directe, plus tardive et plus durable, serait quant à elle attribuée à une action des toxines sur les mécanismes de portes qui président à l'ouverture des canaux sodiques<sup>87-89</sup>. Ainsi, les multiples effets de ces toxines au niveau des cellules nerveuses et musculaires (lisses et striées) expliquent la complexité de la symptomatologie de cette intoxication alimentaire<sup>57,60,90</sup>.

Outre les manifestations majeures précédemment présentées, les rapports de cas répertorient de nombreux autres symptômes tels ceux présentés dans le tableau 2. Parmi ces derniers, le prurit semble l'un des plus importants dans certaines régions endémiques. En effet, en Nouvelle Calédonie le prurit est caractéristique de cette intoxication qui est d'ailleurs communément connue sous le terme de « Gratte » alors qu'à Hawaï ce symptôme n'est recensé que dans 5 % des cas <sup>19</sup>. Au niveau visuel, une vision trouble ainsi que des cécités transitoires ont également été rapportées <sup>49</sup>.

La faiblesse généralisée rapportée par les patients se traduisant par de l'ataxie, des crampes et de l'arthralgie a également été mise en évidence. Or, cette faiblesse reconnue pour perdurer, a également été proposée comme une des explications aux tendances dépressives de certains patients <sup>91</sup>. À ce titre, Levin *et al.*, 2001<sup>92</sup>, ont observé que les patients atteints de ciguatera étaient significativement plus déprimés que les témoins (mesure par le Beck Depression Inventory). Ces patients avaient également moins de vigueur et plus de confusion que leurs homologues sains <sup>92</sup>. Cependant, les mécanismes impliqués dans cette dépression chez les patients atteints de ciguatera n'est pas encore très claire <sup>91</sup>.

Un transfert *in utero* de la toxine chez l'humain a également été signalé <sup>93,94</sup>. En effet, en 1991, Sénécal et Orterloh rapportent qu'une mère a ressenti une augmentation des mouvements fœtaux quelques heures après la consommation d'une portion de barracuda <sup>94</sup>. Les symptômes alors décrits étaient très similaires à ceux rapportés par Pearn dix ans auparavant <sup>93</sup>. Cependant, contrairement aux observations de cette dernière étude de cas, aucune complication au niveau des suites de la grossesse ou du développement postnatal de l'enfant n'a été signalée par Senecal et Orterloh <sup>94</sup>. Ces auteurs ont alors proposé que les effets des CTXs seraient réversibles durant le second trimestre de grossesse <sup>94</sup>. En effet, dans la première étude de Pearn où l'intoxication était survenue à la 36<sup>e</sup> semaine de grossesse, l'auteur avait observé chez le nouveau-né une paralysie faciale du côté gauche ainsi qu'une myotonie des mains <sup>93</sup>. Toutefois, bien qu'aucun effet tératogène n'ait été décrit, des accouchements prématurés et des avortements ont été rapportés <sup>60</sup>. Chez le nourrisson, des cas de ciguatera ont également été observés suite à l'allaitement <sup>95</sup>.

Finalement, un transfert sexuel de la toxine est également proposé dans la littérature médicale. En effet, des femmes se sont plaintes de prurit vulvaire et de dyspareunie lors de rapports sexuels avec un partenaire atteint de ciguatera<sup>96,97</sup>. De leur côté, des patients se sont plaints de douleurs péniennes durant l'éjaculation<sup>78,97</sup>. Ces mêmes douleurs intenses ont également été signalées lors de la défécation<sup>97</sup>.

## **La pharmacopée**

Le traitement de la ciguatera est symptomatique et palliatif. En effet, pour l'instant, il n'existe ni traitement spécifique de la ciguatera ni de protocole de traitement clairement défini pour cette intoxication.

Parmi les médicaments rapportés dans la littérature médicale, le mannitol apparaît comme la substance couramment prescrite. Les effets du mannitol ont été découverts de manière fortuite en 1988 lorsque deux hommes inconscients, suite à une ciguatera sévère, virent leur état s'améliorer peu après l'infusion de mannitol en présomption à un œdème cérébral<sup>32</sup>. Il s'ensuivit, de par le monde, une augmentation de rapports d'amélioration de l'état physique des patients après l'injection de cette substance. Des études chez l'animal ont montré que cette substance permet de résorber les œdèmes axoniques en rétablissant l'osmolarité cellulaire<sup>65,84,98</sup>. De Haro et ses collaborateurs ajoutent d'ailleurs que cet agent pharmacologique diminue les symptômes aigus et chroniques de cette intoxication<sup>17</sup>. Cependant, une étude récente portant sur des rats suggère que l'efficacité du mannitol varie en fonction du délai entre l'intoxication et le traitement<sup>63</sup>. Les effets en seraient d'autant majorés que l'injection serait précoce<sup>97</sup>. À l'heure actuelle, la posologie recommandée dans la littérature est d'une dose intraveineuse de mannitol 20% (5 ml/Kg) infusée pendant 30 minutes<sup>32,99-103,30,104</sup>. Néanmoins, le seul essai clinique en double aveugle réalisé chez l'humain ne soutient pas l'injection d'une dose unique de mannitol comme traitement standard de la ciguatera<sup>105</sup>. En effet, les auteurs de cette étude n'ont observé aucune amélioration significative des symptômes chez les patients traités au mannitol comparé aux patients ayant reçu une solution saline<sup>105</sup>. Au niveau neurologique, l'autre substance proposée est la gabapentine dont l'efficacité est reconnue dans les douleurs neuropathiques<sup>106,107</sup>. La gabapentine s'est montrée efficace lors du traitement de symptômes

neurologiques persistants chez deux patients <sup>107</sup>. Bien que cette efficacité nécessite encore d'être testée sur de large population lors d'essais randomisés à double insu, pour certains auteurs tels Schnorf *et al.*, <sup>105</sup> le coût de cette substance paraît prohibitif dans les zones où la ciguatera est endémique.

Hormis l'injection de mannitol proposée en vue de l'amélioration des troubles neurologiques, plusieurs autres substances sont recensées dans la littérature médicale en vue de soulager les autres malaises occasionnés par la ciguatera. Les bradycardies semblent bien répondre aux injections intraveineuses d'atropine <sup>105,108</sup>. De même que la lidocaïne offrirait théoriquement une amélioration de la cardiotoxicité puisqu'elle bloque la conduction nerveuse en diminuant la perméabilité membranaire aux ions sodium et par conséquent peut, à faible dose, réduire l'hyperexcitabilité induite par les CTXs <sup>78</sup>. D'autres agents thérapeutiques comme des antiémétisants de type antihistaminique contrôleraient le prurit et les vomissements <sup>108</sup>. Le gluconate de calcium, la nifédipine (un vasodilatateur), l'amitriptyline (un antidépresseur) et le complexe vitamine B<sub>12</sub> ont également été proposés dans des cas isolés <sup>109-111,78,112,108</sup>. Cependant, leur efficacité nécessite encore d'être testée.

### **La ciguatera et son agent étiologique: les ciguatoxines**

À la source de l'impressionnant cortège de symptômes caractérisant la ciguatera, près de 30 années d'efforts de recherche ont permis de percer à jour le rôle d'une micro-algue. Dès les premières recherches effectuées sur cette intoxication alimentaire, Randall en 1958 proposait que les substances toxiques responsables de cette maladie étaient élaborées à la base de la chaîne alimentaire au niveau des massifs coralliens <sup>113</sup>. Plus tard, Helfrich <sup>114</sup> en 1963 proposait à son tour que les toxines étaient probablement associées à des microbes mangés par des herbivores. Ces toxines devraient ensuite passer à travers la chaîne alimentaire lorsque les poissons herbivores étaient mangés par les espèces carnivores plus grosses <sup>114</sup>. Depuis, cette théorie s'est affinée au fil du temps et des études pour aboutir à la schématisation actuellement admise du transfert des CTXs le long de la chaîne alimentaire tel que présenté à la figure 2.



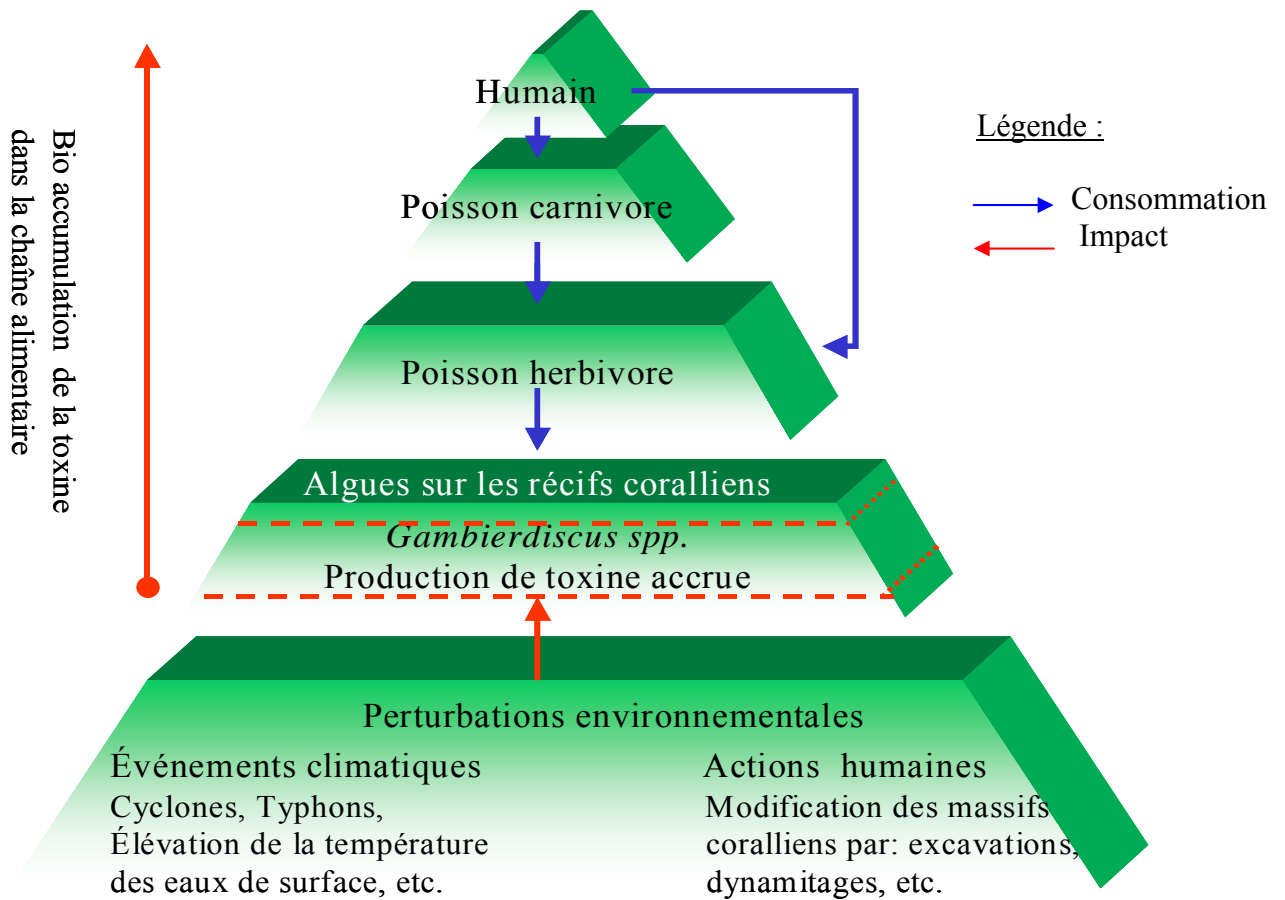


Figure 2: Schéma général de transfert des toxines responsables de la ciguatera à travers la chaîne alimentaire

Il fallut attendre la fin des années 70 et une collaboration franco-japonaise pour que le premier lien soit clairement établi entre un dinoflagellé et l'un des premiers maillons de la chaîne trophique représenté par *Ctenochaetus striatus* un petit poisson herbivore<sup>115,116</sup>. Ces derniers chercheurs avaient alors trouvé une corrélation entre la concentration en dinoflagellé du contenu intestinal de ce poisson et la toxicité de ses viscères. Ce dinoflagellé découvert à proximité des îles Gambier en Polynésie Française fût nommé *Gambierdiscus toxicus*, premier spécimen du genre *Gambierdiscus spp.*<sup>115,117</sup>. Ce genre de dinoflagellé à mobilité réduite, présente une forme lenticulaire, aplatie au niveau antéro-postérieur et possède une taille variant de 38 à 100  $\mu\text{m}$ <sup>118,16</sup>. Il entretient une relation

épiphytique avec des macro-algues vivant préférentiellement sur les substrats calcaires. Cette dernière caractéristique explique la raison pour laquelle les coraux morts sont des surfaces de choix pour la croissance de cette micro-algue <sup>118,119</sup>. Des études suggèrent d'ailleurs que la pullulation de ce dinoflagellé est tributaire des modifications du milieu environnant telles la température des eaux de surface, la concentration en nutriments et la présence de débris d'algues apparaissant suite à des agressions naturelles ou humaines des écosystèmes coralliens <sup>120,37,121</sup>. Des recherches subséquentes ont proposé d'autres dinoflagellés dans la production des ciguatoxines, mais les liens ne sont pas formellement définis. Même si les causes de production de la toxine par ce micro-organisme restent encore nébuleuses, de nombreuses recherches ont été effectuées sur cet organisme et sont rassemblées dans d'excellentes synthèses auxquelles nous référons le lecteur en quête de plus amples informations et dont l'ampleur dépasse le cadre du présent document <sup>122,123,16</sup>.

À l'heure actuelle, quatre types principaux de ciguatoxines (CTX) ont été caractérisés dans le Pacifique, les Caraïbes et l'Océan Indien <sup>124-130</sup> et à chacun de ces types toxiques de nombreux congénères ont été associés <sup>130</sup>. Ces congénères ont d'autant d'importance qu'ils ont été retrouvés dans un même spécimen à des concentrations différentes <sup>130</sup>. Bien que les ciguatoxines aient été reconnues principalement responsables de la toxicité des poissons ciguateriques, d'autres toxines telles les maitotoxines ont également été découvertes <sup>119</sup>. Ainsi selon certains chercheurs, les différences de concentrations et la multiplicité toxinique pourraient être à l'origine des variations symptomatiques observées chez l'humain <sup>131-133</sup>. Toutefois, considérant la prépondérance du groupe des ciguatoxines et le peu de connaissances rassemblées sur les autres substances, nous avons choisi de rapporter uniquement les travaux relatifs aux ciguatoxines et à leurs effets.

Les principales caractéristiques chimiques et toxiques de ces substances sont rassemblées dans le tableau 3. D'un point de vue général, les substances appartenant au groupe des CTXs sont des polyéthers hétérocycliques complexes, de 60 carbones environ, à structure rigide de type échelle, de masse moléculaire supérieure à 1000 daltons dont la conformation commune est présentée à la figure 3 <sup>119</sup>. Les CTXs sont toutes liposolubles, résistantes à la chaleur et aux acides <sup>68</sup>. Ces deux dernières caractéristiques contribuent au caractère

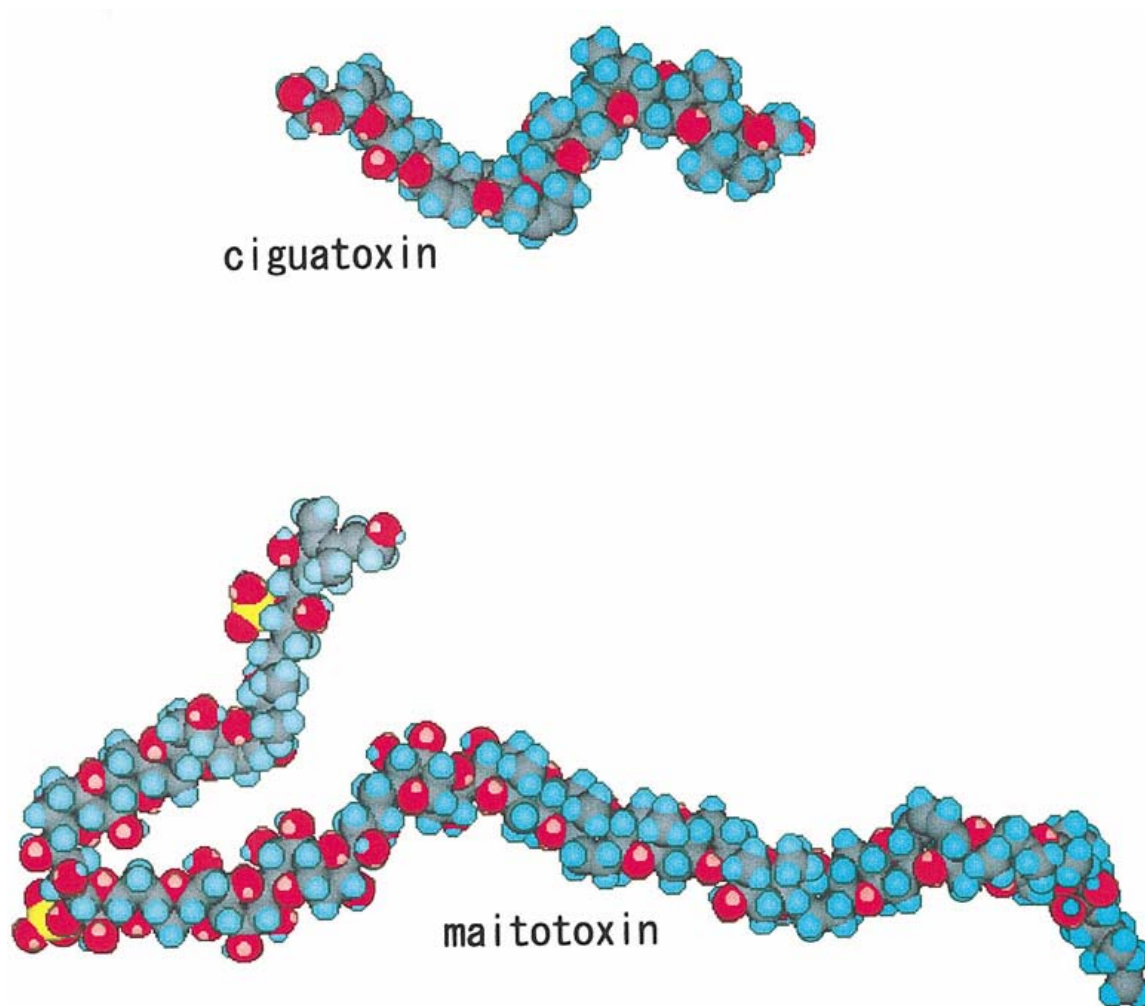
insidieux de cette intoxication, car elles impliquent une pérennité de la molécule lors de la cuisson et de l'ingestion de l'aliment contaminé. Qui plus est, la cuisson semblerait libérer des substances toxiques qui seraient neutralisées dans les tissus de poissons crus <sup>120</sup>. De plus, il est impossible d'identifier un poisson ciguatoxique puisque la dite toxine est incolore, inodore et ne produit aucun effet apparent sur les poissons <sup>68,76,133</sup>. Selon des observations faites dans leur étude, Tosteson *et al* en 1988 suggèrent que les barracudas pourraient détoxiquer, au moins en partie, les toxines responsables de ciguatoxicité. Les évidences de cette étude proposent le foie comme organe de détoxification chez cette espèce

120

Tableau 3: Synthèse des caractéristiques chimiques des divers types de ciguatoxines et des maitotoxines

| <b>Origine géographique</b>                  | <b>Pacifique</b> | <b>Pacifique</b> | <b>Pacifique</b> | <b>Caraïbes</b>             | <b>Océan indien</b> |
|--|------------------|------------------|------------------|-----------------------------|---------------------|
| <b>Nom</b>                                   | Maitotoxine      | Ciguatoxine      | Ciguatoxine      | Ciguatoxine                 | Ciguatoxine         |
| <b>Caractéristiques</b>                      | -                | Type I           | Type II          | Type III                    | nd                  |
| <b>Nombre de cycles</b>                      | 32               | 13               | 13               | 14                          | nd                  |
| <b>Principale toxine</b>                     | MTX              | P-CTX-1B         | P-CTX-3C         | C-CTX-1 et 2 stéréoisomères | I-CTX-1             |
| <b>Nombre de carbones</b>                    | 160              | 60               | 57               | 62                          | nd                  |
| <b>Masse moléculaire en Dalton</b>           | 3422             | 1111,6           | 1022,4           | 1140,6                      | 1140,6              |
| <b>Fonction portée par le cycle terminal</b> | nd               | spiroacétilique  | spiroacétilique  | hémiacétilique              | nd                  |
| <b>Chaîne latérale</b>                       | cycle 1          | cycle A          | aucune           | aucune                      | Nd                  |
| <b>DL<sub>50</sub> IP souris</b>             | 0.05 µg/Kg       | 0.35 µg/Kg       | 2.5 µg/Kg        | 3.6 µg/Kg                   | 7 µg/Kg             |

Adapté de Marquais et Sauviat, 1999. Nd : non déterminé, IP : intrapéritonéale,



©2001 The Japan Chemical Journal Forum and John Wiley & Sons, Inc

Figure 3: Conformation des ciguatoxines et des maitotoxines en solution. Les atomes de carbone sont représentés en gris, l'hydrogène en bleu clair, oxygène en rouge, le chlore en vert, l'azote en bleu foncé et le soufre en jaune. Extrait de *Yasumoto, 2001*.

Durant les deux dernières décennies, la recherche des méthodes analytiques appliquées à la détection des toxines dans les poissons ont suivi différentes approches de nature biologique (études *in vivo* et *in vitro*) et physico-chimique<sup>134-137</sup>. Depuis 1985, il existe un test de dépistage de la ciguatera chez les poissons<sup>138</sup>. Or à l'heure actuelle, son efficacité est encore sujette à controverse<sup>76</sup>. Chez l'humain, plusieurs techniques sont mises en œuvre

pour permettre la détection de la ciguatera dans le sang <sup>139,68,140</sup>. Or, chacune d'elles comporte des inconvénients qui limitent leur utilisation du point de vue diagnostic <sup>137</sup>. La spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est l'une des techniques de détection actuellement disponible. Elle est sensible et sélective mais son coût nuit à son utilisation. Depuis plusieurs années, les chercheurs proposent différentes avenues immunochimiques qui à l'heure actuelle n'ont pas encore donné naissance à l'utilisation de tests fiables <sup>141</sup>. En effet, la production d'anticorps spécifiques des CTXs est fortement entravée par la faible concentration de ces CTXs dans les tissus et la complexité de leur structure chimique. Cependant, les essais effectués à base d'anticorps paraissent comme une des approches les plus prometteuses en regard de leurs coûts pour la détection routinière des CTXs dans le poisson avant consommation <sup>141-143</sup>. Outre cette dernière approche, à court terme, le test neuropharmacologique de fixation spécifique ligand-récepteur paraît une des avenues très prometteuses. Ce test communément appelé test de « binding » repose sur l'interaction entre un ligand et son récepteur <sup>70</sup>. Son application à un extrait de quelques grammes de poisson ou de quelques cellules de *Gambierdiscus* est en cours à l'Institut Louis Malardé (Chinain, M. 2001, communication personnelle). Cette technique a d'ailleurs été utilisée avec succès pour la détection des brevetoxines, substances analogues aux CTX <sup>144</sup>. En somme, l'absence de mesures objectives, simples et rapides d'utilisation, complique le diagnostic de cette intoxication par les cliniciens qui la peuvent la confondre avec d'autres intoxications alimentaires <sup>145,146</sup>.

## **Hypothèses et objectifs de recherche**

Du point de vue de la santé publique, il apparaît clairement que la prévention de la ciguatera et de ses conséquences butte sur deux problèmes majeurs que sont la détection de la toxine avant la consommation du poisson et l'absence d'antidote. En effet, à la lumière des informations colligées dans la littérature scientifique, il appert qu'il n'existe pas encore de méthodes chimiques de détection rapides, peu coûteuses et fiables des CTXs dans les poissons avant consommation. L'absence de signature olfactive, gustative et l'aspect extérieur sain des poissons ciguatoxiques entrave également leurs détection. De plus, du point de vue pharmacologique, il semble qu'il n'y ait pas encore de substances actives

unanimentement reconnues pour contrer les effets des ciguatoxines chez l'humain. Considérant la gravité de cette maladie et les limites énoncées ci-dessus, la prévention de cette intoxication prend tout son sens.

L'une des avenues possibles de la prévention de cette maladie pourrait se fonder sur les connaissances déjà bien établies du transfert de la toxine à travers la chaîne alimentaire. En effet, nombre d'études écologiques réalisées ces deux dernières décennies ont permis de mieux connaître la dynamique de population du dinoflagellé de genre *Gambierdiscus spp.*, de déterminer son potentiel toxique et de proposer un délai entre la production de la toxine et l'apparition de la toxicité chez les poissons. Fort de ces dernières évidences, à partir des concentrations en agent producteur de toxines mesurées dans une zone, nous pourrions prédire à quel moment les poissons deviendront potentiellement ciguatoxiques et ainsi émettre des avis de salubrité des poissons de lagon. Or, cette hypothèse requiert d'évaluer le délai temporel entre la production des ciguatoxines et l'apparition de cas dans la population. C'est l'objectif que se propose d'atteindre la première étude de ce projet de doctorat. À notre connaissance, aucune étude publiée n'a exploré cette avenue et ce, certainement en raison du caractère sporadique des efflorescences de *Gambierdiscus spp.* et de l'absence de système de surveillance de la ciguatera dans la population. Limites qui ont été écartées grâce à une collaboration étroite de notre équipe avec l'Institut Louis Malardé et la Direction de la Santé de Polynésie Française. En effet, ces deux institutions obtiennent respectivement des relevés hebdomadaires et mensuels de la floraison de dinoflagellés et l'apparition de ciguatera dans la population.

Parmi les synthèses de la littérature traitant de la ciguatera, certains chercheurs suggèrent une recrudescence de ce type d'intoxication au même titre que d'autres pathologies reliées à l'ingestion de poissons ou de mollusques contaminés par des toxines d'origine marine<sup>147-149,76,150,151</sup>. Ces propos se fondent sur l'augmentation de cas de ciguatera rapportés dans la littérature et sur des évidences écologiques qui relient ces intoxications aux changements climatiques tel le réchauffement des eaux de surface<sup>147,152,76,151</sup>. Or, l'adoption de ces propos ou leur réfutation est entravée par les difficultés d'obtention de données d'incidence exactes<sup>33,27</sup>. Ainsi, pour répondre à une telle question, il est intéressant d'examiner

l'évolution de la ciguatera dans une population afin d'en évaluer sa tendance temporelle. Tel est l'objectif de l'analyse rétrospective des fluctuations de l'incidence de cette intoxication en Polynésie Française, sujet du troisième chapitre de cette thèse.

Suite à la description de l'évolution temporelle et régionale de la ciguatera, la seconde partie de ce doctorat a pour objectif général de décrire cette intoxication selon sa symptomatologie et ses déterminants de fréquence dans la population.

Car, même si les signes cliniques de cette pathologie sont relativement bien connus, l'épidémiologie de ce type d'intoxication alimentaire en est encore à ses premiers balbutiements<sup>27</sup>. En effet, les symptômes gastro-entériques sont reconnus pour être brefs et caractéristiques de la phase aiguë<sup>54,77,60,76,151</sup>. Cependant, la situation diffère si l'on considère les troubles neurologiques. En effet, nombreux sont les rapports de cas où ces signes persistent durant plusieurs semaines et même plusieurs mois<sup>153,42,132,154,151,155,156</sup>. Donc, il est maintenant admis que la ciguatera peut évoluer chez certains patients en une forme chronique à caractéristique neurologique<sup>157,15</sup>. Néanmoins, il reste encore à établir si cette phase chronique est commune à toutes les formes de ciguatera, y compris celles qui ne requièrent pas une hospitalisation. Parmi les troubles neurologiques caractéristiques de la phase chronique, les paresthésies et les dysesthésies semblent être les signes qui persistent le plus longtemps<sup>64,15</sup>. Toutefois, la durée de ces troubles varie d'un cas à un autre<sup>158,159</sup>, ce qui nuit à l'adoption d'un consensus dans la littérature quant à la durée de ces signes.

Outre l'aspect chronique de cette maladie, la définition de la sévérité de ciguatera est également un point qui reste à préciser. Souvent abordée dans la littérature, la sévérité de la ciguatera ne semble pas cependant avoir été clairement définie. La variabilité symptomatologique entre les individus est probablement à l'origine de cette lacune. Pourtant, certains auteurs vont jusqu'à distinguer divers niveaux de sévérité de cette affection (forme légère, moyenne et sévère)<sup>64</sup>. Cette distinction empirique semble intimement reliée à l'état du patient requérant une hospitalisation ou encore au nombre de symptômes ressentis par le patient. Or, si la sévérité est effectivement reliée à l'évolution de la maladie en une phase chronique, il convient de définir précisément la sévérité de cette affection.

Toutefois, ce manque de précision n'a pas empêché l'identification de certains facteurs apparemment reliés à la sévérité de la maladie. En effet, il semble qu'un premier épisode ciguaterique ne protège pas contre une intoxication subséquente. Au contraire, lors d'une seconde intoxication par les CTXs, le patient semblerait développer une forme de ciguatera encore plus sévère que celle ressentie la première fois <sup>160,158,83,17</sup>. Cette hypothèse de nombreuses fois énoncée n'a pas encore été prouvée. Par ailleurs, de rares études épidémiologiques traitent des facteurs influençant la sévérité et la durée des symptômes. Parmi ces facteurs sont recensés l'âge, la consommation d'alcool, la pratique d'une activité physique, les rapports sexuels, les espèces de poissons consommées et d'autres facteurs de susceptibilité individuelle <sup>73,158,83,17,161,162,155</sup>. Ainsi, la troisième étude de cette thèse de doctorat (chapitre 4) se propose de documenter la sévérité en phase aiguë chez des patients atteints de ciguatera et de déterminer l'influence des facteurs précédemment identifiés dans la littérature. Dans cette même population, cette étude tentera de déterminer la durée de la phase chronique et d'identifier les facteurs déterminant la persistance des symptômes neurologiques.

Par ailleurs, bien que les symptômes neurologiques soient reconnus comme étant les troubles majeurs de la ciguatera, peu de mesures objectives de l'état neurologique des patients sont présentées dans la littérature médicale. Les examens neurologiques cliniques sont, en effet, essentiellement présentés dans les rapports de cas portant sur un petit nombre d'individus. Les symptômes neurologiques recensés dans ce type d'intoxication chez de grande population de patients sont donc, en général de nature subjective. Or, dans un souci de description de la symptomatologie chronique de cette intoxication dans une population qui peut présenter divers degrés de sévérité, il convient de mesurer objectivement l'état neurologique des patients afin d'en appréhender au mieux l'évolution.

Outre les facteurs précédemment cités, la nature vectorielle de la transmission de cette maladie nous amène à considérer les facteurs possiblement confondant relatifs aux vecteurs de la toxine, les poissons. Ces derniers sont, d'une part, une source d'acide gras de type omega-3 dont l'effet protecteur des fonctions motrices a été récemment montré <sup>163</sup>. L'effet des oméga-3 est principalement documenté dans le neuro-développement des nourrissons



dont les mères ont ingéré de grandes quantités de poissons durant leurs grossesses. Récemment, une étude sur les maladies coronariennes suggérait une action de ces acides gras sur les canaux sodiques qui aurait pour effet de prévenir les ischémies induisant des fibrillations ventriculaires <sup>164</sup>. Considérant la concentration importante de canaux Na<sup>+</sup> au niveau du système nerveux central et l'action des CTXs sur ce type de canaux, il apparaît essentiel de considérer l'apport en oméga-3 en tant que facteur potentiellement confondant dans une étude des effets neurologiques de la ciguatera. D'autre part, il est probable que les espèces prédatrices de récifs et pélagiques contiennent des quantités non négligeables de méthylmercure (MeHg) dont le potentiel neurotoxique est largement reconnu. L'effet à long terme du MeHg sur les fonctions neurologiques des adultes est maintenant bien connu. Beuter et *al.*, en 1999<sup>165</sup> ont étudié l'association entre la concentration en mercure sanguin et certaines fonctions motrices. Leurs résultats suggèrent que le MeHg affecte les performances des sujets les plus exposés à cette substance <sup>165</sup>. Pour la plupart des Polynésiens, le poisson constitue la principale source en protéine et probablement la principale source en MeHg. Nous avons mesuré le taux moyen sanguin en MeHg et en oméga 3 de 15 donneurs de sang tahitiens (Dewailly et Hubert, 2001, données non publiées). Les résultats montrent un taux moyen de 81,4 nmol/L de MeHg. De plus, la proportion en oméga-3 par rapport aux acides gras totaux de ces individus est corrélée avec la concentration plasmatique en MeHg [ $r = 0.69$ ,  $p < 0.01$ ] (Dewailly et Hubert, 2001, données non publiées). Ces taux sont relativement élevés comparés à ceux des Québécois et sont proches de ceux retrouvés chez les Inuits <sup>166</sup>. Ces résultats préliminaires nous obligent à prendre en considération l'effet neurotoxique du MeHg et l'effet neuroprotecteur des oméga-3 lors de l'étude épidémiologique sur la ciguatera. À notre connaissance, aucune étude publiée à ce jour ne considère l'influence de ces deux derniers facteurs sur la présence de symptômes neurologiques chroniques de la ciguatera.

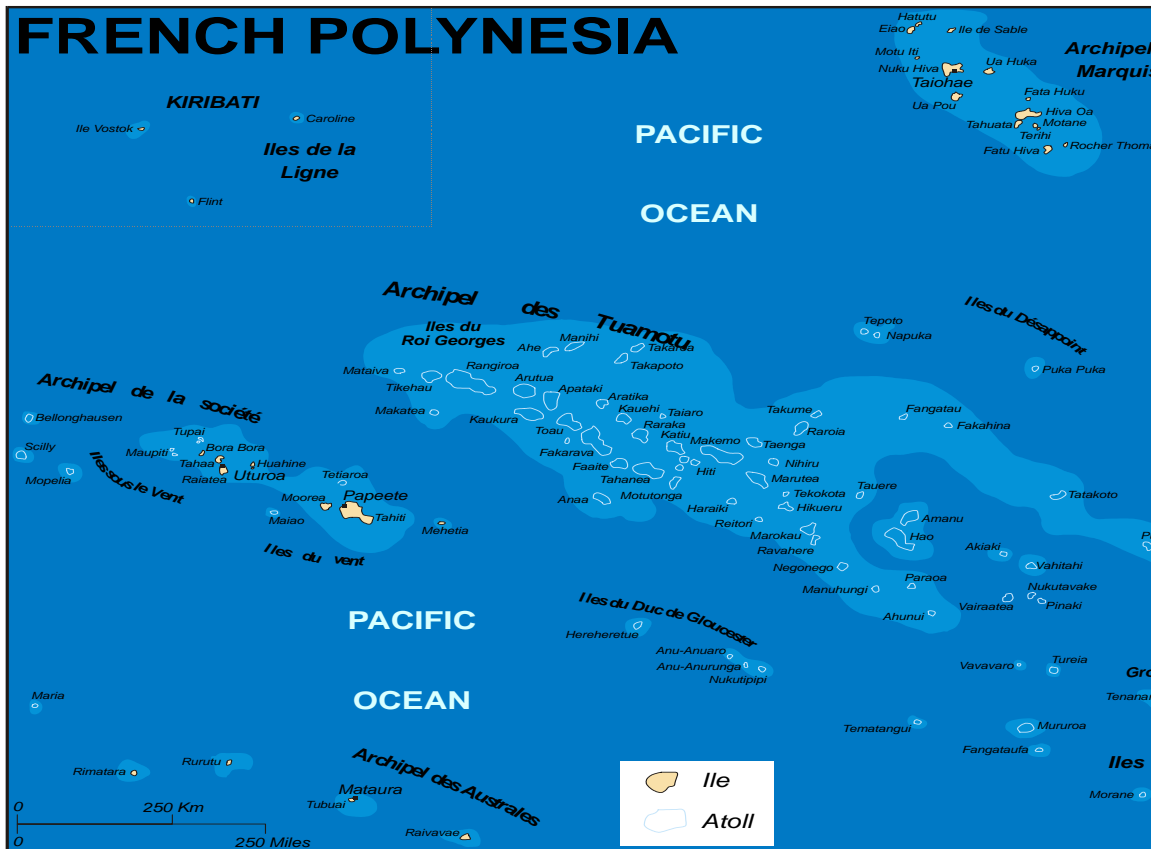
Au vu de ces dernières informations, le cinquième chapitre matérialisé par comparaison de personnes exposées et non-exposées à la ciguatera répondra aux objectifs de caractérisation clinique des symptômes neurologiques chroniques de la maladie et permettra de considérer l'effet neurotoxique du MeHg et l'effet neuroprotecteur des oméga-3 sur la présence de symptômes neurologiques de la ciguatera.

## **Une recherche adaptée au milieu**

Chez l'humain, les informations colligées sur la ciguatera proviennent principalement de rapports cliniques de cas ou d'épidémies isolées<sup>146</sup>. Les informations disponibles sur la ciguatera et ses conséquences sont donc très limitées. Ces derniers constats supportent d'eux-mêmes la poursuite d'études épidémiologiques sur de larges populations exposées. Étant donné le caractère sporadique des cas de ciguatera au Canada et aux États-Unis, il est difficile d'y réaliser des études épidémiologiques. C'est pourquoi, nous avons décidé de réaliser les diverses études de ce doctorat en Polynésie Française. Au-delà de la forte incidence de cette intoxication, cette région du Pacifique possède également une structure de services de santé publique parfaitement adaptée aux types d'études envisagées. Ces dernières caractéristiques proposent d'elles-mêmes la Polynésie Française comme terrain de choix de l'étude de la ciguatera.

## **La Polynésie Française**

L'ensemble de ce projet de doctorat se déroule, donc, en Polynésie Française, archipels du Pacifique Sud (Figure 4). Ce territoire se compose de 118 îles couvrant une superficie émergée de 4 200 km<sup>2</sup>, dispersées sur 5 500 000 km<sup>2</sup>. Ces îles sont regroupées en cinq archipels, la Société (îles du Vent et îles Sous le Vent), les Marquises, les Tuamotu, les Gambier et les Australes. La capitale Papeete se localise sur l'île de Tahiti dans l'archipel de la Société. Au dernier recensement de 1996, la population de la Polynésie Française était estimée à 219 521 habitants avec une densité totale de 65 habitants au km<sup>2</sup>. Papeete regroupe près de 67 % de la population totale. Quatre ans plus tard, la Direction de la Santé publique a estimé la population à 235 000 avec la même densité de population pour Papeete.



source ©Intercarto-2000

Figure 4 : Carte de la Polynésie Française

## Devis d'études

Dans ce document, quatre types d'études sont proposées en réponse aux objectifs énoncés dans la section précédente. Le premier chapitre présente une étude de séries chronologiques, se basant sur des données d'efflorescence d'algues et de cas de ciguatera dans la population rassemblée entre les années 1993 et 2001, sur l'île de Tahiti. La seconde étude est une analyse rétrospective de cas de ciguatera recensés par les services de santé publique polynésiens du 1<sup>er</sup> janvier l'année 1992 au 31 décembre 2001 sur l'ensemble du territoire de la Polynésie Française. Le troisième chapitre rapporte, quant à lui, les résultats d'une étude de cohorte qui s'est déroulée du 1<sup>er</sup> mars 2002 au 1<sup>er</sup> mars 2004. Cette étude

avait pour objectif de déterminer la prévalence des symptômes en phase aiguë et chronique, grâce à l'administration de questionnaires de symptômes lors d'entrevues individuelles. Cette étude permettait également d'identifier des facteurs déterminant la persistance des symptômes neurologiques en phase chronique. Finalement, le dernier chapitre est une étude de devis cas-témoins. Elle correspond à une évaluation plus détaillée des effets chroniques à l'aide d'un examen neurologique clinique et de tests moteurs, sensoriels. La cueillette de données de cette étude s'est échelonnée sur une période de 15 mois, du 15 mars 2003 au 18 juin 2004.

## **CHAPITRE 2 : Sea water temperature, *Gambierdiscus* spp. variability and incidence of ciguatera poisoning in French Polynesia**

### Auteurs:

Chateau-Degat M-L., Chinain M., Cerf N., Gingras S., Hubert B., Dewailly E.

### **Résumé**

Dans le contexte des changements climatiques, la ciguatera a été proposée en tant qu'indicateur des modifications environnementales. Or, la validation de cet indicateur nécessite la connaissance du délai entre les fluctuations de l'algue toxique, de la température de l'eau de mer (TEM) et des cas dans la population. Tel est l'objectif de cette étude. La densité cellulaire de l'algue et la TEM ont été mesurées mensuellement de février 1993 à décembre 2001 au récif d'Atimaono (Tahiti), les rapports de cas ont été obtenus de trois dispensaires autour de ce site. La TEM est positivement associée à la croissance de l'algue avec un délai de 13 et 17 mois ( $p < 0,001$ ). Les fluctuations de l'algue sont associées à celles des cas avec un délai de 3 mois ( $p < 0,001$ ). Les modèles issus des données de 1993-1999, validés sur la période 2000-2001, démontrent une bonne valeur prédictive des fluctuations de l'incidence de la ciguatera suivant les efflorescences d'algues.

## Abstract

In the context of global warming, ciguatera disease is put forth as an indicator of environmental changes. However, to validate this indicator, unknown parameters such as the delay between environmental disruptions and outbreaks of ciguatera need to be investigated. The main goal of this study was to investigate the temporal link between the growth of *Gambierdiscus* spp. and declared cases of ciguatera disease. Algal cell density and sea water temperature (SWT) were recorded on a monthly basis between February 1993 and December 2001 on the Atimaono barrier reef of Tahiti Island. Reports of ciguatera cases were obtained from three community health clinics near the study site. The autoregressive integrated moving average model (ARIMA) showed that: 1) SWT were positively associated with *Gambierdiscus* spp. growths ( $p < 0.01$ ) at a lag of 12 and 15 months; 2) *Gambierdiscus* spp. growths measured at a given time were related to a peak number of cases of ciguatera recorded 3 months after peak densities of this dinoflagellate ( $p < 0.001$ ) were noted. These results provide for the construction of a predictive model of the temporal link between ciguatera disease in humans and its etiologic agent: *Gambierdiscus* spp. This model, built using 1993 - 1999 data, and then validated with 2000 - 2001 data, demonstrated a substantial ability to predict increases in the incidence of ciguatera disease following algal blooms.

## Introduction

Ciguatera is the most common and widespread seafood poisoning afflicting approximately 50,000 victims every year worldwide <sup>27</sup>. This ichthyosarcotoxism is endemic in tropical areas spreading from 35° North to 35° South latitudes <sup>167,168,152</sup>, French Polynesia is one part of the world highly affected with an annual incidence of 330 per 100 000 in 1999 (Data from the Health Directorate, French Polynesia, 2001).

Ciguatera disease is characterized by a myriad of rapidly appearing gastrointestinal, neurological and cardiac symptoms, manifesting in as little as a few minutes up to a few hours following the ingestion of contaminated seafood <sup>60,151</sup>. While this seafood illness presents a low fatality rate (<0.1%), its severity, long-term health effects and economic impacts contribute to making it a serious public health problem <sup>27</sup>.

This seafood poisoning is predominantly induced by the ingestion of reef fish that have been contaminated by highly potent neurotoxins, named ciguatoxins (CTXs) <sup>60,151</sup>. CTXs are mainly produced by a dinoflagellate of the genus *Gambierdiscus*, of which the best known *Gambierdiscus toxicus* was first discovered in the Gambiers Islands (French Polynesia) <sup>115</sup>. This microalgae lives on coral reef in epiphytic association with a wide range of other macroalgal species. Distribution and growth of these dinoflagellate communities seem to be influenced by abrupt changes of their natural environment such as hurricanes, storms, heavy rains or by gradually changing environmental factors such as sea water temperature, salinity, and nutrient concentrations <sup>169-171,168,152</sup>.

Numerous studies examining the impact of climate change and similar phenomena such as El Nino Southern Oscillation on the incidence of human diseases, particularly vector borne diseases, have been published <sup>172,173,152,150</sup>. Ciguatera disease by its vectoral nature appears to be one disease on which climate changes may have a significant impact. Recently, researchers in New Zealand found a strong positive correlation between the annual incidence of ciguatera and local warming of surface seawater in El Niño conditions <sup>152</sup>. According to these authors, increases in incidence of ciguatera may occur if the climate

continues to warm as predicted by many leading climatologists. Ciguatera disease appears to be a sensitive indicator of environmental disturbance in tropical marine ecosystems<sup>152</sup>.

Furthermore, it is currently recognized that CTXs are the main causal agent of ciguatera disease with a well-known mode of transmission<sup>174</sup>. *Gambierdiscus* spp. are grazed by herbivorous fish, CTXs consequently bioaccumulate in the food chain with the highest concentrations found in fish viscera and head. Thus, it is reasonable to expect that ciguatera incidence in humans may be associated with *Gambierdiscus* spp. blooms. However, the time period required for the transmission of CTXs from the dinoflagellate to humans remains unknown.

Thus, the aim of this study was to improve our knowledge of the transmission of ciguatera through the food chain while focusing on the temporal aspect. More precisely, this study aimed to provide an estimate of the temporal relation between dinoflagellate abundance and one of its main environmental growth factors, i.e. seawater temperature. Furthermore, in this study we also investigated the temporal link between growth of *Gambierdiscus* spp. and the number of reported cases of ciguatera disease from February 1993 to December 1999 in French Polynesia, a territory located in the South Pacific Ocean.

## **Materials and Methods**

### **Data collection**

Records of Seawater Temperature (SWT) and *Gambierdiscus* spp. abundance were documented for 5 different sites of the Atimaono barrier reef in the Papara district (Tahiti, French Polynesia) (Figure 1) from February 1993 to December 2001. SWT and algae samples were collected on a weekly basis and cell densities of *Gambierdiscus* spp. were assessed microscopically<sup>168</sup>. SWT were recorded using a field thermometer (Testo 925; BIOTECK, France). SWT and *Gambierdiscus* spp. density data analyzed here represent the weekly arithmetic means from the five collection sites. This weekly data was then aggregated into monthly mean data in order to display them on a time scale identical to that against which cases of ciguatera were recorded.



The French Polynesian public health authority supervises 82 health centres spread across the entire French Polynesian territory including public hospitals, dispensaries and clinics that report cases of reportable diseases such as ciguatera poisoning. We then extracted case recorded by three different clinics near the area where SWT and *Gambierdiscus* spp. density were measured (Figure 1). Cases analyzed in this section correspond to the monthly ciguatera reports provided by the three local health centres (Paea clinic, Papara clinic and Mataiea clinic).

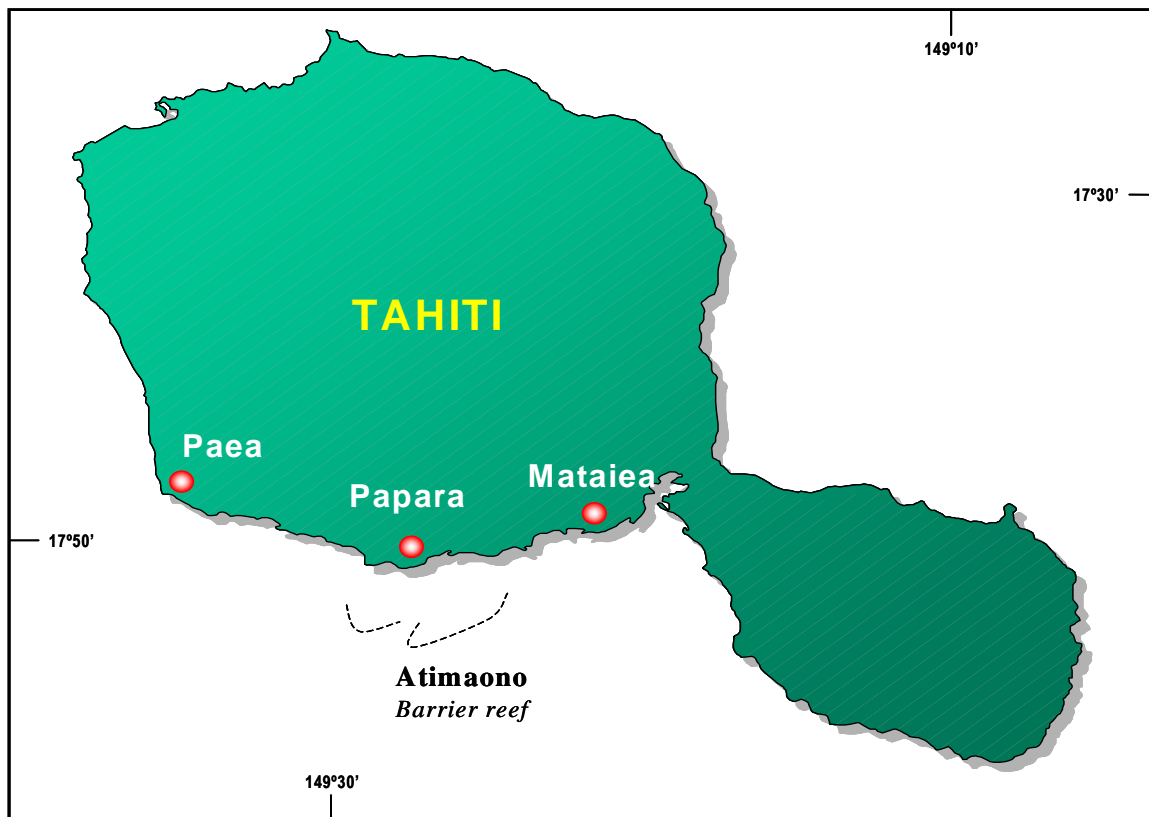


Figure 5: Geographic location of Atimaono barrier reef in Papara's district and three clinics under study on Tahiti Island, French Polynesia. Map adapted from Chinain *et al.* 1999<sup>168</sup>.

## Statistical analysis

In order to describe variables observed over a long period of time, specialized statistical techniques had to be used. Indeed, long series of consecutive points are sometimes joined by autocorrelations, and classic regression techniques presume the independence of residuals between time points <sup>175-178</sup>. Thus, autocorrelation violates conditions of applicability of classic statistical tools and leads to incorrect tests of significance <sup>175,177</sup>. Time-series analysis takes into account these autocorrelations and is one of the most appropriate approaches to address this issue <sup>175,176,179</sup>. We used 95 % confidence intervals for autocorrelation coefficients to test the presence of autocorrelation in the three different time-series analyzed here. Conclusions obtained from these tests support the use of autoregressive integrated moving average (ARIMA) models to describe the temporal pattern of the three different variables of interest.

For each variable, the identification of the best fit for the times-series model was based upon three consecutive stages, i.e. identification, estimate and diagnosis <sup>179,177</sup>. The examination of the crude time-series plot, the autocorrelation functions (ACF) plot, the partial autocorrelation functions plot (PACF) and inverse autocorrelation functions plot (IACF) allowed us to determine if differentiation and/or transformation (e.g. log natural, exponential) of crude series were required before building the model and identifying parameters to be included in the model. Differentiation and/or transformation are necessary to obtain a stationary series that corresponds to series with a constant mean and variance through time. The model's parameters were estimated by maximum likelihood method <sup>179</sup>. According to the model selected and after checking the stationarity or the invertibility conditions, the Ljung-Box-Pierce statistics (known as the Q' statistics) were calculated in order to evaluate the goodness of fit of the model *i.e.* residual series correspond to white noise <sup>175,180,179</sup>. This test was performed for the first twelve residuals of a series. We inferred that subsequent residuals would correspond to white noise if the first twelve were white. In the event that more than one model was retained, the Akaike Information Criterion (AIC) was used to compare models; the best model was the model with the lowest AIC value. The percentage of the variance ( $R^2$ ) of series that is explained by the model was

also calculated. This latter parameter provided a complementary evaluation of the goodness of fit of the model.

To examine the impact of one series on another, *i.e.* the impact of SWT on *Gambierdiscus* spp. densities and the impact of *Gambierdiscus* spp. abundance on ciguatera case reports, we used transfer models applied in ARIMA context<sup>179</sup>. This approach is based on the same statistical principle exposed before, but in this case the model is built in a bivariate context. This allowed us to compute the cross-correlation function (CCF) between the residuals of two series introduced in the model. In the CCF we also verified that only positive lags were statistically significant. The identification and measure of the parameters of the transfer model were performed using the ACF, the PACF and the IACF of the residual. The goodness of fit of the transfer model was determined with Q' statistics that tested for autocorrelation of residuals and cross correlation of residuals that are with noise. The AIC and R<sup>2</sup> were also used to compare and choose the most appropriate model.

We divided our data into two sets according to time period. The first set was used to build models. This data set covered the period from February 1993 to December 1999. The second data set, covering the period between January 2000 and December 2001, was used as the validation set to examine the forecast ability of the models previously created.

All statistical analysis was performed using SAS software release 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) with a 5% threshold acceptance.

## **Results**

Over the seven-year study period, the mean ( $\pm$ SD) value of monthly seawater temperatures (SWT) was 27.7 ( $\pm$  1.0) Celsius degrees. From January to July 1994, monitored SWT exhibited high temperatures, up to 29°C, and reaching 30.3°C degrees. Except for this period, SWT showed stable variations according to both seasons varying from 26°C (Minima) to 29°C degrees (Maxima). A significant statistical difference was observed between mean SWT during hot and cool seasons (Table 4).

However, we found no significant difference in mean dinoflagellate cell densities when both seasons were compared (Table 4). Similar negative results were obtained for mean monthly cases of ciguatera disease ( $p=0.81$ ).

The confidence interval of the coefficient of autocorrelation indicates the presence of significant autocorrelations for all variables, and prohibits the use of classic regression techniques. Indeed, SWT and dinoflagellate cell densities showed a significant first order autocorrelation (SWT  $r=0.77$ , I.C. [0.56 - 0.98]; Dinoflagellate cell densities:  $r=0.38$ , I.C.[0.17 - 0.60]) and monthly cases of ciguatera showed a seventeenth order autocorrelation ( $r=0.25$ , I.C. [0.03 - 0.48]). All crude series had a stationary variance and mean except for SWT that displayed a seasonality, therefore a seasonal differencing at 12 months were applied to SWT series to reach stationarity.

The SWT series displays an autoregressive seasonal model ( $AR_{12}(1)$ ). This model indicates that the SWT value depends on a fraction from the previous month, plus fractions of value attained the preceding year, plus a random error ( $p$  value of all parameters  $<0.001$ ). The dinoflagellate cell density series follows an autoregressive model of order 2 ( $AR(2)$ ) that forecasts the change in *Gambierdiscus* spp. community in this region as an average change of algae population, plus a fraction of the two previous months, plus a random error ( $p$  value of all parameters  $<0.001$ ). Finally, the monthly cases of ciguatera poisoning series follows a moving average model of order 17 ( $MA(17)$ ) which indicates the variation in number of cases of ciguatera, a random error, plus some fraction of the random error in the seventeen preceding months ( $p$  value  $<0.001$ ).

Tableau 4: Descriptive statistics of variables of interest from 1993 through 1999, and for cool and hot seasons respectively.

| Parameters   | Mean  | I.C*            | P value <sup>§</sup> |
|--|-------|-----------------|----------------------|
| <b>Monthly sea-water temperature (Celsius degrees)</b>                     |       |                 |                      |
| All year   | 27.7  | [27.4 - 27.9]   |                      |
| Cool season **   | 27.1  | [26.8 - 27.4]   | <0.001               |
| Hot season ***   | 28.0  | [27.8 - 28.3]   |                      |
| <b>Monthly <i>Gambierdiscus</i> spp. cell density (per g<sup>-1</sup>)</b> |       |                 |                      |
| All year   | 629.3 | [508.3 - 876.1] |                      |
| Cool season  | 689.3 | [502.5 - 776.8] | 0.40                 |
| Hot season   | 585.5 | [426.1 - 745.0] |                      |
| <b>Monthly number of ciguatera cases recorded</b>                          |       |                 |                      |
| All year   | 2.3   | [1.1 - 3.4]     |                      |
| Cool season  | 2.1   | [0.3 - 3.9]     | 0.81                 |
| Hot season   | 2.4   | [0.9 - 3.9]     |                      |

\*Confidence limit for mean at 95%; \*\*: Cool season: from May to September; \*\*\*: Hot season: from October to April; § P value of difference between season

### **Effect of SWT on *Gambierdiscus* spp. density**

The transfer models obtained revealed a significant association between SWT and *Gambierdiscus* spp. cell densities (Table 5). SWT exerts a double impact on *Gambierdiscus* spp. cell densities at a 13-month lag (Model 1a:  $p < 0.001$ ) and 17-month lag (Model 1b:  $p < 0.001$ ). Among the three models presented in Table 5, the model retained in the validation process was the more complex model (Model 1c) that included double impacts. The Akaike Information Criterion of this model was the lowest (AIC=1014) compared to others (model 1a: AIC= 1083 and model 1b: AIC= 1027) and the percentage of variance explained by the model was the highest compared to others (Table 5). Q' statistics show that there was no significant autocorrelation (of the twelfth first order) in the residuals of the regression model (table 5).

Tableau 5: Transfer models linked to seawater temperature impact on dinoflagellate growth (Model 1), and dinoflagellate cell fluctuations impact on declared cases of ciguatera (Model 2).

| Parameters                                      | Estimates | Standard Error | P-value |
|---|-----------|----------------|---------|
| <b>Model 1<sup>a</sup></b>                      |           |                |         |
| SWT at 13 lag                                   | 22.93     | 3.75           | < 0.001 |
| AR(2) <sup>§</sup>                              | 0.38      | 0.11           | < 0.001 |
| Autocorrelation of residuals at lag 12          | -         | -              | 0.499   |
| Crosscorrelation of residuals at lag 12         | -         | -              | 0.148   |
| R <sup>2*</sup>                                 | 0.42      |                |         |
| <b>Model 1<sup>b</sup></b>                      |           |                |         |
| SWT at 17 lag                                   | 24.19     | 3.69           | < 0.001 |
| AR (2)  | 0.34      | 0.11           | < 0.01  |
| R <sup>2*</sup>                                 | 0.44      |                |         |
| Autocorrelation of residuals at lag 12          | -         | -              | 0.592   |
| Crosscorrelation of residuals at lag 12         | -         | -              | 0.339   |
| <b>Model 1<sup>c</sup></b>                      |           |                |         |
| Constant  | -10575.8  | 3016.2         | < 0.001 |
| SWT at 13 lag                                   | 141.41    | 72.91          | 0.055   |
| at 17 lag                                       | -265.27   | 74.39          | < 0.001 |
| AR (1)  | 0.26      | 0.13           | 0.039   |
| Autocorrelation of residuals at lag 12          | -         | -              | 0.535   |
| Crosscorrelation of residuals at lag 12         | -         | -              | 0.458   |
| R <sup>2*</sup>                                 | 0.51      |                |         |
| <b>Model 2</b>                                  |           |                |         |
| <i>Gambierdiscus</i> spp. cell density at lag 3 | 0.004     | 0.0008         | < 0.001 |
| Autocorrelation of residuals at lag 12          | -         | -              | 0.865   |
| Crosscorrelation of residuals at lag 12         | -         | -              | 0.674   |
| R <sup>2*</sup>                                 | 0.81      |                |         |

**1 a,b,c:** Different transfer models with *Gambierdiscus spp* cell density as response variable and seawater temperature as explanatory variable. **2:** Transfer model with cases of ciguatera as response variable and *Gambierdiscus spp* cell density as explanatory variable. §: Autoregressive component, \*: percentage of the variance of series that is explained by the model.

Figure 6 represents the dinoflagellate cell density fluctuations estimated by this latest model versus the data measured during the study period. This model seems in accordance with the data measured with the validation set when the forecasting procedure was applied to the model. The discordance observed between the two curves is related to fluctuations in cell densities unexplained by SWT, and highlights the potential influence of other factors in *Gambierdiscus spp.* growth.

### **Relation between *Gambierdiscus* spp. densities and case reports of ciguatera**

ARIMA analysis indicated that *Gambierdiscus* spp. cell densities seem to be associated with recorded cases of ciguatera poisoning. Specifically, the transfer model showed that the onset of the disease in human populations at a specific time was significantly related to the dinoflagellate cell densities recorded 3 months previously (3-month lag:  $p < 0.001$ ) (Table 5). Q' statistics show that there was no significant autocorrelation (of the twelfth first order) in the residuals of the regression model and 80.1 % of the variance of the series was explained by the transfer model retained ( $R^2 = 0.81$ ).

Figure 7 presents the fluctuations of cases of ciguatera recorded from February 1993 to December 2001. The left side of the solid line in Figure 7 shows the number of cases of ciguatera recorded over a 2-year validation period. As observed in this part of Figure 7, our model demonstrated its ability to predict a varying number of cases of ciguatera as a function of *Gambierdiscus* spp. cell density fluctuations.

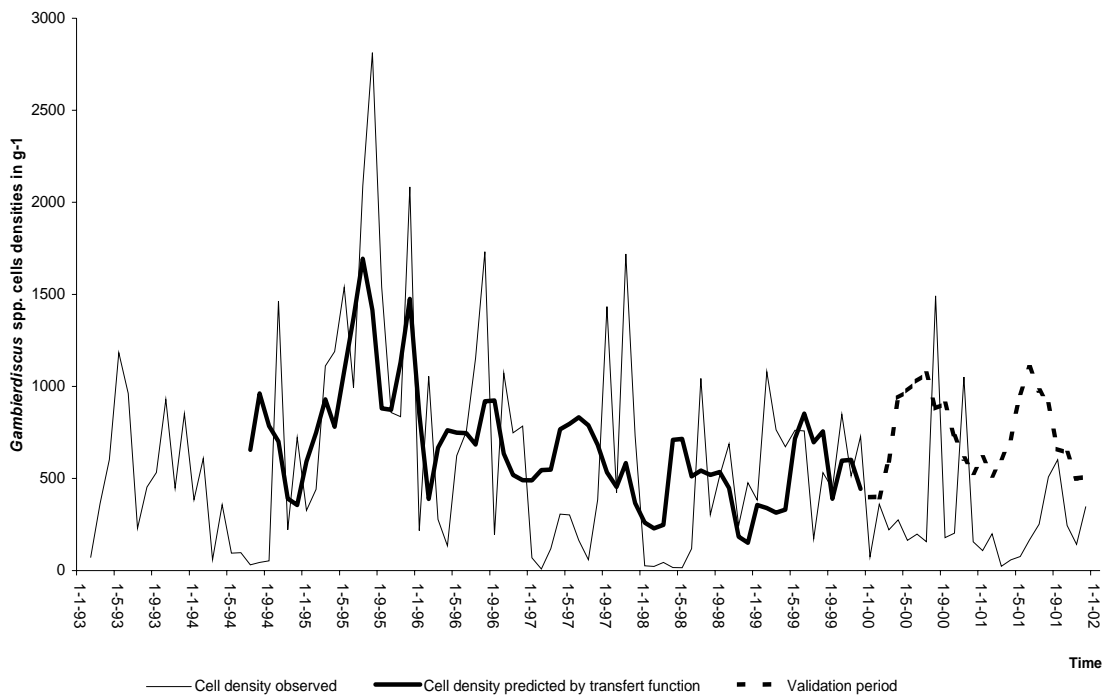


Figure 6: Modeling of *Gambierdiscus* spp. cell densities from February 1993 to December 2001 in the Papara district as a function of seawater temperature. The thin solid line represents data on density measured during the study period; the thick solid line represents densities estimated by the transfer model, whereas the dashed line represents forecasts of *Gambierdiscus* spp. cell density from January 2000 to December 2001.



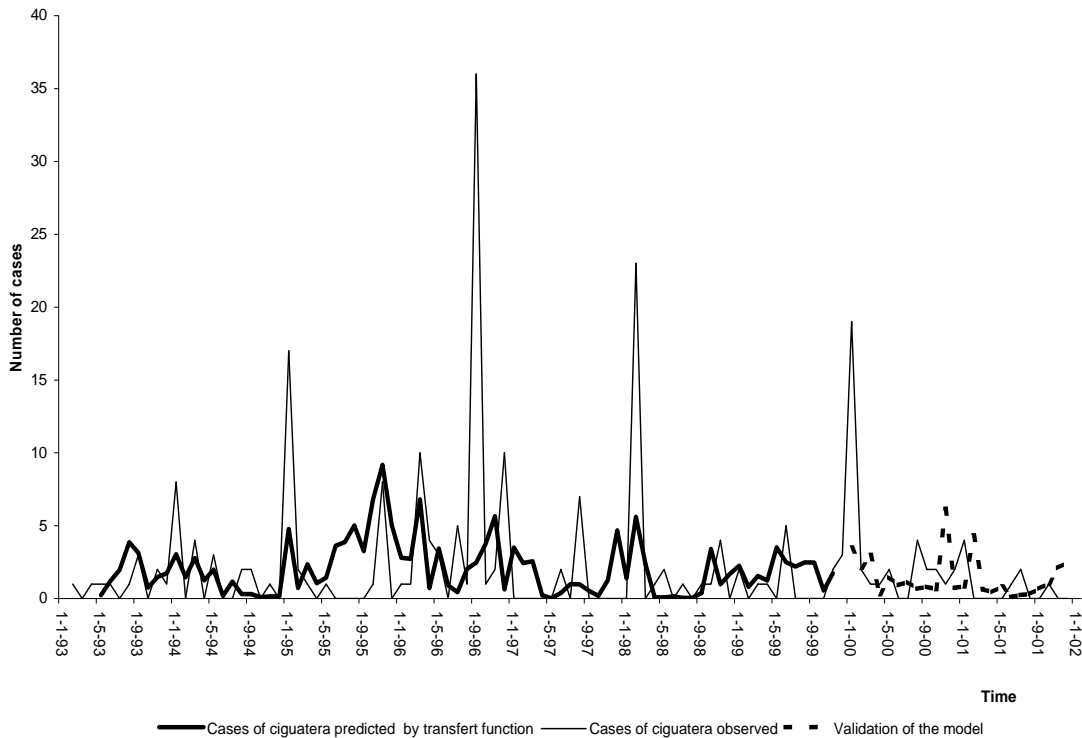


Figure 7: Modeling of cases of ciguatera from February 1993 to December 2001 in the Paea-Papara-Mataiea district as a function of *Gambierdiscus* spp. cell density. The thin solid line represents cases of ciguatera recorded during the study period, the thick solid line represents cases of ciguatera estimated by the transfer model, whereas the dashed line represents forecasts of cases of ciguatera from January 2000 to December 2001.

## Discussion

The theory that ciguatera disease is transmitted from microalgae to humans through the food chain, initially proposed in the early 60's<sup>113,114</sup>, is currently fully accepted. Furthermore, ciguatera incidence has been related to changes in the marine environment<sup>169-171,168,152</sup>. However, this seafood poisoning remains unpredictable. The delay between changes of environmental parameters, blooms of harmful algae producing ciguatoxins and

the appearance of ciguatera disease in humans remains unknown. This study is the first attempt to look into this question by simultaneously analyzing ecological and health data obtained from long-term surveillance.

The first results presented here suggest that dinoflagellate growth is strongly related to seawater temperature (SWT) <sup>169-171,181-183</sup> and is in accordance with previous experimental and observational findings suggesting that *Gambierdiscus* spp. abundance positively correlates with SWT <sup>171,181-183</sup>. The optimal growth rates of the dinoflagellate were observed at temperatures between 27 and 30 °C <sup>171,183</sup>. From these experimental and observational results no precise lag-time between an increased input of dinoflagellate growth and temperature has been established.

In French Polynesia, earlier findings suggest that blooms of *Gambierdiscus* spp. occurred predominantly at the beginning and at the end of the hot season <sup>167,168,152</sup>. In this study our effort was directed towards elucidating the lag of the impact of a change of SWT on *Gambierdiscus* spp. cell densities. Our results show a 13- and 17 month-lag. A detailed description of events occurring during the study period revealed that the Atimaono reef barrier was exposed to sustained elevated temperatures concomitant with coral mass bleaching from January to July 1994. Afterwards, increasing peak densities and frequency of *Gambierdiscus* spp. blooms were observed from the end of 1994 through 1995, until 1996. These latest observations may explain the time lags found in our analysis. However, when time-series analysis excluding the years 1993 and 1994 in order to exclude abnormal events were performed, similar lag results were obtained; the 13-month lag remained statistically significant and the 17-month lag became non-statistically significant (data not shown). This suggests that the lags observed are not exclusively related to an exceptional phenomenon. Moreover, events in 1994 adduce a biological plausibility of the 13 and 17-month lag found here. This time would be required to provide ideal conditions of growth for *Gambierdiscus* spp. such as dead coral as “new surfaces” for colonization <sup>167,168,152</sup>.

Nevertheless, we do not suggest that water temperature is the only factor affecting dinoflagellate growth, since *Gambierdiscus* spp. growth is related to numerous environmental factors such as salinity, nutrient concentrations, competition with other

microalgae or the presence of epiphytic bacteria<sup>169,182,184,185</sup> as well as endogenous growth factors<sup>186</sup>. Differences observed between our model and measures of *Gambierdiscus* spp. growth highlight the importance of these other factors on algal growth. For example, the model described here does not seem able to predict drastic decreases in cell concentrations near the zero value measured. The speed with which dinoflagellate cells disappear, in one month in some cases, rules out the involvement of the factors presented above but rather suggests occurrences of strong water motion that could have washed the cells away. This hypothesis is supported by labile features of attachment of this dinoflagellate on its macroalgal support<sup>187</sup>, and is strengthened by climate perturbations reported during the study period, such as the strong rainy period followed by a tropical storm named Ursula that came close to Tahiti in January 1998 (data provided by Météo France, French Polynesian Department, 2001). The labile attachment features of this dinoflagellate may also explain the variability observed between measures of cell densities in five collection sites. This may have weakened the temporal relationship between SWT and *Gambierdiscus* spp. abundance. Despite the fact that our model does not explain all cell variations of *Gambierdiscus* spp., it provides a main trend and allows us to propose SWT as a predictor of *Gambierdiscus* spp. cell abundance.

The seasonality of ciguatera poisoning has often been discussed in literature, but no consensus has been reached to date<sup>44,188</sup>. Ciguatera cases seem to occur predominantly from late spring until early summer in subtropical areas and tend to appear at any given time in the tropics<sup>189</sup>. Our results show no seasonal pattern in the number of ciguatera cases declared. A monthly comparison shows January as the month presenting the highest number of cases of ciguatera disease (data not shown). It would be hazardous to present only one month as a ciguatera period considering the numerous unknown factors likely to influence the number of intoxicated people. Indeed, this result could be strictly contextual and could be linked to end of the year celebrations. However, we observed autocorrelations in the case-report series that may imply other factors as predictors of ciguatera occurrences such as *Gambierdiscus* spp. dynamics.

The transfer model obtained highlights a clear temporal relation between *Gambierdiscus* spp. cell densities and ciguatera disease during the period under study. This allows us to propose that the cyclical pattern of ciguatera poisoning suggested in the literature is related to fluctuations of *Gambierdiscus* spp. cell densities that produce the causative agent of ciguatera disease, i.e. ciguatoxins. Indeed, according to previous reports on sensitivity of the dinoflagellate towards its ambient temperature<sup>171,181-183</sup> and based on our results, we can hypothesize that the disparity in ciguatera occurrences in subtropical and tropical areas is attributable to temperature.

Our model was able to predict the emergence of ciguatera cases and demonstrated its ability to detect a peak of the disease. However, it failed to discover the magnitude of the phenomenon. In other words, it could not predict how many people would be intoxicated. This is essentially related to “dependent happenings” features of ciguatera poisoning, a concept quite similar to the one expressed by Sir Ross in 1916 in an infectious disease context<sup>190</sup>. Indeed, ciguatera outbreaks depend on context, on the number of people who share the same ciguatoxic fish as well as the type of fish consumed: herbivorous or carnivorous. Consequently, predicting the magnitude of ciguatera outbreaks would necessitate a much more complex model than the one proposed here and finally with benefits, in terms of prevention tools, no better than those obtained with our current model. However, this ability to detect the magnitude of peaks of ciguatera could be improved by replacing cell densities by toxicity of the blooms in the model. This was not done here because the toxicity screening was monitored interruptedly. However, toxicity results from screened blooms indicated a relatively high toxicity of Tahitian blooms contributing to a high toxic reservoir in fish<sup>167,168,152</sup>.

The other methodological limitation of this study is related to the nature of the cases recorded. Indeed, data prohibited us from distinguishing between sporadic cases and outbreaks. However, we performed time-series analysis with cases recorded all over Tahiti Island and we observed similar results to those observed near the Atimaono zone (data not shown). This latest result allows us to think that our model does not suffer from a “banquet bias”.

Our results may also be biased by the well-known fact inherent to ciguatera disease: under-declaration. This limitation may have weakened the temporal relation between *Gambierdiscus* spp. abundance and cases of ciguatera observed in this study. But, there is no reason to think that this under-declaration changed over the study period or in between the three dispensaries considered here. Moreover, we assumed that all ciguatera cases declared, and subsequently analyzed in this study, were associated with fish harvested in Atimaono zones. With the data at our disposal, we had no means of distinguishing if people who reported ciguatera disease had really eaten fish harvested in this zone. However considering the fishing tradition of people who live in this area, i.e. people consumed mainly fish caught locally, our assumption seems reasonable.

According to recent research, it appears that dynamic linear model techniques would be more appropriate given the geographical conditions and the distribution of the disease in the present study<sup>178</sup>. To date, unavailability of this modelling in current statistical software prevents its practical use. However, it will be interesting when this method is available to apply it in a study in order to compare and validate our current results.

Despite these limitations, the present findings suggest an influence of climate, environmental modifications and dinoflagellate dynamics on disease pattern. The results found here show that in response to change in seawater temperature, a modification in *Gambierdiscus* spp. density appears 13 to 17 months later and repercussions on human health can be observed 3 months later. In other words, a 20-month period, approximately, is necessary to observe a modification in human health following a modification of the ecological parameters of *Gambierdiscus* spp growth. This was supported by the model's results on the influence of SWT on disease fluctuations that highlighted a 19-month lag (data not shown). The lags proposed here might be contextual and related to the study area. Thus, these lags require further investigation. Nevertheless research outcomes from this study might be useful for assisting ciguatera risk management initiatives in endemic areas. The lag time found here suggests that practical applications of our method in public health surveillance of ciguatera would be preferentially based on a *Gambierdiscus* spp. monitoring program. For example, once blooms are detected reinforcements of prevention and or

information of population might be done. As well, the results correspond to needs clearly expressed by numerous researchers in the last few years <sup>146,191,192</sup>. Moreover, the dependence of ciguatera occurrence on temperature observed here and elsewhere <sup>152</sup> brings this seafood poisoning into the larger picture of climate change and human health and supports the expanding of early warning systems based on climate and environmental modifications.

## **Acknowledgments**

Mr. Frederic Troc from Météo France, Faaa station, is gratefully acknowledged for information provided on climate events during the study period. The authors also thank M Tchou Fouc and A Ung for weekly field samplings.

## **CHAPITRE 3: Temporal trends and epidemiological aspects of ciguatera in French Polynesia: a ten year analysis**

### Auteurs:

Chateau-Degat M-L., Dewailly, E., Cerf N., Nguyen N.L., Chinain M., Darius T., Hubert B., Chansin R.

### **Résumé**

La littérature scientifique suggère, à l'échelle mondiale, une recrudescence de la ciguatera, un ichtyosarcotoxisme endémique des zones tropicales dont certains aspects épidémiologiques restent à clarifier. L'objectif principal de cette étude rétrospective était donc, d'analyser la tendance temporelle de l'incidence de la ciguatera en Polynésie Française et de vérifier l'influence de facteurs individuels sur la sévérité de la maladie. De 1992 à 2001, 7842 cas de ciguatera ont été recensés. Les taux d'incidence annuels varient de 26,3 à 41,9 pour 10 000 personnes-année mais démontrent une certaine stabilité à l'échelle du territoire. Toutefois, la comparaison des taux entre les archipels révèle des différences importantes ( $p < 0.0001$ ), les plus reculés ayant des taux très élevés. L'analyse détaillée d'un échantillon de patients ( $n=1824$ ) pour lequel des données cliniques étaient disponibles confirme la signature neurologique de cette intoxication. Or, parmi les facteurs étudiés, seul le sexe s'est révélé associé à la sévérité de cette intoxication.

## **Abstract**

Ciguatera poisoning is an ichthyosarcotoxism found throughout many tropical areas of the world. Even though this intoxication has been observed since the 18<sup>th</sup> century, many epidemiological aspects remain unclear. The main goal of this retrospective study was to report the temporal trends of the incidence of this seafood poisoning from 1992 to 2001 in French Polynesia, and to clarify the influence of some individual factors on the severity of the disease. Over a period of ten years, 7842 cases of ciguatera disease were recorded. The annual incidence varied from 26.3 to 41.9 per 10,000 person-year. An analysis of cases grouped by archipelago revealed differences in incidences ( $p < 0.0001$ ) with the most remote archipelagos having the highest incidences. However, the incidence of ciguatera poisoning appeared relatively stable during the ten years of the study period. A detailed analysis on a sub-sample of recorded cases for which clinical information was available ( $n=1824$ ) confirmed the neurological and gastrointestinal nature of this poisoning as previously reported. Significant differences for specific symptoms were noted between genders. Other factors such as age and type of fish consumed were not related to the severity index of the disease.



## Introduction

Ciguatera is a seafood poisoning found throughout tropical areas of the world and is considered to be a public health problem in many southern countries including French Polynesia<sup>34,193,35,194,195</sup>. In spite of an endemic status in tropical areas, ciguatera also affects northern people through spreading via tourism and the global increase of consumption of reef fish<sup>28,196,27</sup>. It is suspected that 50,000 to 500,000 people per year are potentially at risk of contracting ciguatera disease in tropical areas with an annual incidence fluctuation found somewhere between 0.78/10,000 person-year to 58.5/10,000 person-year according to location<sup>34,48</sup>. Nevertheless, these estimations must be interpreted with caution in light of the great underreporting of the disease<sup>37,146</sup>. An example of this being in the South Pacific where the reported rate of ciguatera disease was estimated at 10% to 20%<sup>37</sup>.

In the literature, the number of reported cases of ciguatera poisoning has increased over the last three decades. This apparent global increase of incidences is mainly due to tourism expansion, economic exchanges as well as natural and human-related environmental disturbances<sup>151</sup>. Climate changes such as ocean temperature increases were also proposed as potential influences on the incidence of this food poisoning<sup>172</sup>. However, one study focusing on temporal trends of incidences in South Pacific countries from 1975 to 1990, noticed different situations according to country. Over a 15-year period, some countries recorded a monotonous decrease or increase in ciguatera incidence while others reported an increase followed by a decrease<sup>193</sup>. Since then, no published study focussed on temporal incidence trends of this disease in endemic areas. Documenting such patterns is, however, an important issue for surveillance in island countries where ciguatera has great economic and public health impacts.

To this day, ciguatera diagnosis still depends on clinical symptoms and epidemiological inquiries. However, the symptomatology of this seafood poisoning appears complex and is easily misdiagnosed by physicians unfamiliar with the disease<sup>197</sup>. Related medical literature consists mainly of clinical case reports and few studies based on a large number of patients have focused on the epidemiological aspects of this poisoning<sup>54,36,158,83</sup>. The severity of the disease tends to vary from one patient to another and from one area to

another<sup>121,151</sup>, and factors that would help explain this variation are still poorly studied and therefore poorly understood.

In this context, data from the public health directorate was used to explore changes over time in incidences of ciguatera poisoning in French Polynesia from 1992 to 2001. Furthermore, detailed medical information collected on a sub-sample of cases recorded during this study period allowed us to describe symptoms and investigate the contribution of certain factors that could be related to the severity of the disease.

## **Population and Methods**

### **Case records**

French Polynesia is a territory located in the South Pacific Ocean. It is comprised of 118 islands scattered among five archipelagos: Society, Marquesas, Tuamotu, Gambier and Austral. In 2001, the Institut de Statistiques de Polynésie Française estimated the total population at 235 200 inhabitants, 67 % living on the island of Tahiti (Society archipelago). French Polynesia has 82 health centres including public hospitals and dispensaries. Every month, the public health directorate receives reports of notifiable diseases such as ciguatera from all public health centres. These monthly reports comprise case count regrouped according to four age categories (less than 1 year old, one to 4 year old, five to fourteen years old, fifteen year old and over). For the present study, we used monthly reports recorded from January 1992 to December 2001 and the yearly population census provided by the Institut de Statistiques de Polynésie Française to calculate yearly incidence rates by archipelago. We also estimated the population in each age group by archipelago in order to obtain incidence rates by age group. These calculations were based on the distribution of the population recorded during the 1996 census, which was also the midpoint period of the study.

Since the middle of the seventies, a parallel surveillance program of ciguatera disease has been ongoing at the Institut Louis Malardé (ILM). This latest program created with research goal focused on clinical information compared to governmental surveillance

program which had an administrative focus (i.e. ciguatera case count). On a regular basis, the Institute receives individual clinical records sent by public health physicians of French Polynesia. This program is based on the voluntary participation of physicians who provide detailed description of cases according to gender, age, symptoms experienced, number of past ciguatera events and type of fish consumed. In this study, the ILM provided us with 2648 individual clinical records received between 1992 and 2001.

### **Statistical analysis**

Incidence rates were standardized by direct method using the age composition of the entire French Polynesian population<sup>198</sup>. Ratios and differences were performed to compare the incidence rates according to month, season and location. Two-sided P values for trends per yearly rates were calculated using Poisson maximum-likelihood regressions<sup>199</sup>.

All continuous variables of the sub-sample for which clinical data were available are presented as arithmetic means  $\pm$  standard deviation. The means for continuous variables were compared by conventional t-test, and Fisher exact tests were performed to compare proportions.

Descriptive analysis highlighted four main classes of symptoms experienced by patients (i.e. neurological, gastrointestinal, cardiac and systemic symptoms) independently of the number of symptoms experienced. A severity index of the disease was then created based on these classes of symptoms. This index, categorized into three levels, took into account if patients experienced only 1, 2, 3 or all classes of symptoms. The higher the index, the more severe the disease. Ordinal logistic regressions were performed to examine the relationship between the severity index of the disease and factors provided by patients. The goodness of fit of the model was examined by testing the proportional odds assumption. A small p-value suggested that the fitted model was an inadequate model.

All statistical analyses were performed with a significance threshold of  $\alpha=5\%$  using SAS software release 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## Results

### Incidence Trend

Over the 10-year period of the study, 7963 cases of ciguatera disease were declared to the French Polynesian health directorate. After excluding 121 cases because of uncertain diagnosis, the final sample retained included 7842 incident cases of ciguatera for 2 207 104 person-years. As presented in Table 6, this number appears equally distributed among archipelagos. However, Society shows a significant lower incidence rate compared to other archipelagos ( $p < 0.001$  in all comparisons).

Tableau 6: Incidence rates per 10 000 person-year of ciguatera disease recorded from 1992 to 2001 according to archipelago and the whole territory

|   | Archipelagos |           |         | Whole territory |      |
|---|--------------|-----------|---------|-----------------|------|
|   | Austral      | Marquesas | Tuamotu | Society         |      |
| <b>Total cases recorded</b>                     | 1301         | 2037      | 2253    | 1951            | 7842 |
| <b>Crude Incidence rate §</b>                   | 197          | 251       | 165     | 10              | 36   |
| <b>Age standardized incidence rate §</b>        | 193          | 280       | 156     | 10              | 36   |
| <b>specific Incidence rate § (by age group)</b> |              |           |         |                 |      |
| <1 yr   | 41           | 64        | 45      | 5               | 0    |
| 1-4yr   | 31           | 63        | 53      | 3               | 1    |
| 5-14 yr   | 36           | 68        | 69      | 6               | 4    |
| >15yr   | 295          | 418       | 216     | 13              | 31   |

§: value of incidence was rounded up to the nearest whole number

This difference between archipelagos was observed in all periods under study, as presented in Figure 8. Society archipelago shows the lowest yearly incidence and Marquesas the highest. Statistical trend analysis suggested a significant global decrease in the yearly incidence rate of ciguatera in French Polynesia ( $p$ , trend  $< 0.001$ ). In Society and Marquesas archipelagos, a significant decrease and increase are detected respectively ( $p$ , trend  $< 0.001$ ). In Tuamotu and Austral, no temporal trends reached the statistical significance with  $p$  values equal to 0.09 and 0.06 respectively. Nevertheless, a visual inspection of all the data did not support the significant trends observed (Figure 8). Indeed, the distribution of incidences over the 10-year period suggests that significant trends could have been triggered by cases recorded in 1993, 1997 and 2000.

Differences in incidence rates were observed according to the month of the year in all of the archipelagos varying from 96 to 148 per 10,000 person-month<sup>-1</sup>. July (cool season) presented the weakest incidence rate and January (hot season) the highest. However, no trends were discernible when the normal time course of the year (January to December) was considered ( $p$ , trend=0.09). Furthermore, we observed significant differences between both seasons. The incidence rate during the cool season (April to August) appeared significantly lower than the incidence rate recorded during the hot season (September to March) ( $p < 0.001$ ). Similar significant results between seasons were observed in each archipelago as presented in Figure 9.

Among all cases in the territory, less than one percent were < 1 year old of age, 13% were children aged between 1 and 14 years old and the majority of cases were 15 years old and over (86.4 %), the adult group presenting the highest incidence rate. Similar results were observed for each archipelago considered separately (Table 6). Notice that incidence rates for babies were extremely high in Marquesas compared to babies from other archipelagos.

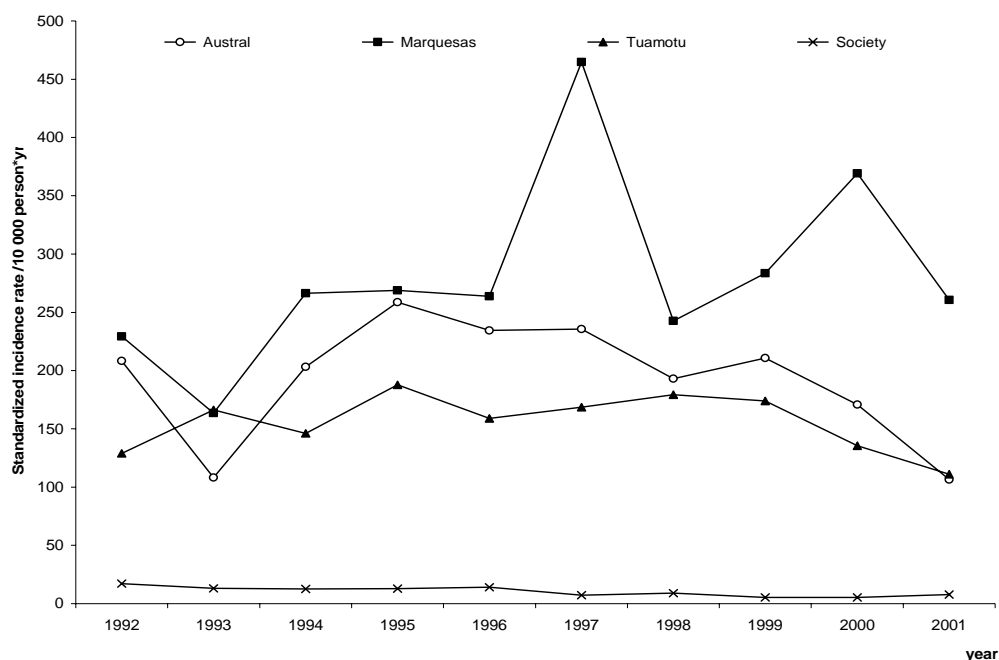


Figure 8: Time trends of incidence of ciguatera in French Polynesia by archipelago, 1992-2001. Rates are age-adjusted to the entire French Polynesian population.

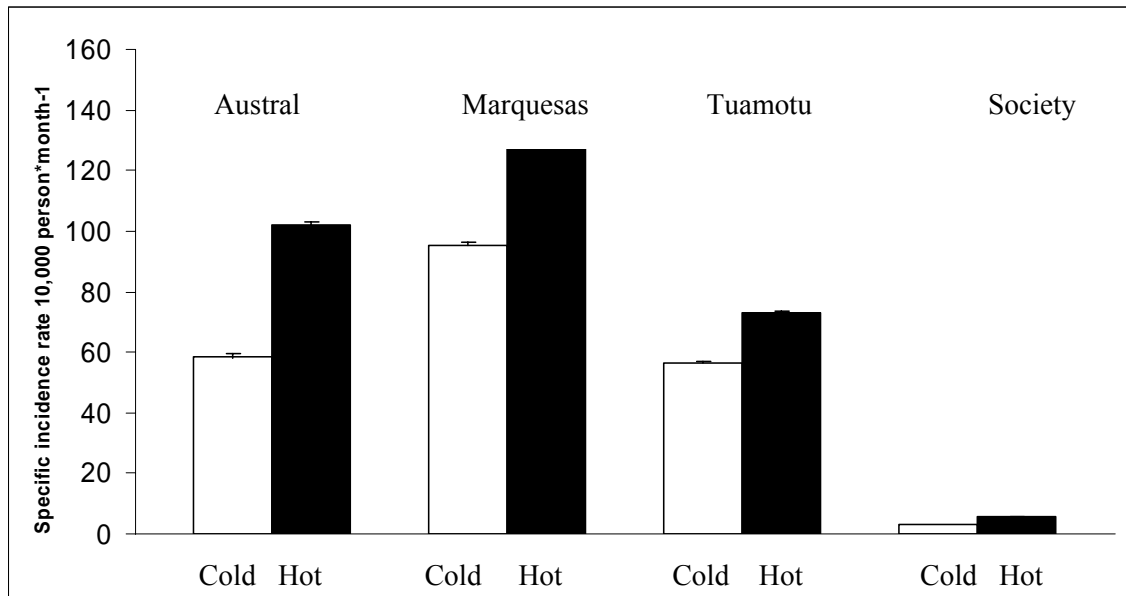


Figure 9: Specific incidence rates of ciguatera in French Polynesia by archipelago and season (all were significantly different at  $p < 0.05$ )

### Clinical records

From 1992 to 2001, the ILM received clinical reports from 2647 ciguatera cases. One hundred and nine cases were excluded from the analysis due to missing information on gender or age. We also excluded cases with missing information on symptoms experienced ( $n=715$ ). Excluded patients did not appear statistically different from other patients according to mean age ( $p=0.42$ ), gender proportion ( $p=0.52$ ) and archipelagos of residence ( $p=0.65$ ). The final sample used included 1824 clinical records.

The gender ratio (M/F) was 1.89. Mean age of men was 38.3 years ( $\pm 14.5$ ) and was significantly higher than women ( $36.2 \pm 14.9$ ) ( $p < 0.01$ ). As previously observed in public health records, babies and children under 15 years old represented a low proportion of ciguatera case reports (5.4 %). Young adults represented 24.4 % of patients (15-24 yr) and approximately 70 % of patients were in their second to fourth decade. The third decade was

the main decade reported with 29.8 % of patients. People over 55 years represented only 13.8 % of the total study group.

Patients reported the consumption of more than 83 different fish species potentially related to ciguatera; most of them were carnivorous (67.5 %) followed by herbivorous fish (29.1 %) and invertebrate eaters (3.4 %). Among the fish found to be associated with the disease, the predominant species being parrotfish (9.7 % of the cases reported). Moreover, we observed that in Austral, Marquesas and Tuamotu, 99% of the time the fish consumed was harvested locally. However, in the Society archipelago the situation was slightly different as only 53.1 % of fish consumed was caught locally remainder was fished in remote archipelago.

Frequencies of symptoms reported by patients are presented in Table 7. Descriptive analysis revealed the predominance of neurological symptoms (frequencies around 90%) over other symptoms (Table 7) and showed that patients may experience from one to eleven different symptoms simultaneously ( $5.30 \pm 1.7$ ). The majority of patients (53.8 %) experienced a combination of neurological, gastrointestinal and diffuse symptoms and less than 4% experienced only one type of symptoms (neurological or gastrointestinal or diffuse). Interestingly, none of the patients presented cardiac symptoms alone. According to the severity index, around 13 % of patients had experienced severe ciguatera, 57 % had experienced a moderate form of the disease and 30 % of patients had experienced a ciguatera qualified as light.

Among symptoms listed in Table 7, significant differences appeared between genders. Men seemed to experience diarrhoea and dysuria more often than women. On the other hand, men experienced vertigo, skin lesions due to intense itching, trouble with cold perception and generalized pain less frequently than women. No other statistical differences were found for other symptoms according to gender.

Tableau 7: Symptom frequency reported by patients (in percentage, by gender)

| Symptoms                         | Gender  |           | Total % | P, value* |
|----------------------------------|---------|-----------|---------|-----------|
|                                  | Men (%) | Women (%) |         |           |
| <b>Cardiac symptoms</b>          |         |           |         |           |
| Bradycardia                      | 14.0    | 11.3      | 13.0    | 0.118     |
| Hypotension                      | 6.9     | 9.1       | 7.7     | 0.108     |
| <b>Gastrointestinal symptoms</b> |         |           |         |           |
| Diarrhoea                        | 78.2    | 73.9      | 76.7    | 0.049     |
| Vomiting                         | 31.5    | 33.7      | 32.2    | 0.361     |
| <b>Neurological symptoms</b>     |         |           |         |           |
| Paresthesia                      | 89.6    | 87.7      | 88.9    | 0.262     |
| Trouble with cold perception     | 88.1    | 91.2      | 89.2    | 0.052     |
| Vertigo                          | 53.8    | 61.8      | 56.3    | 0.001     |
| Itching                          | 51.3    | 50.2      | 50.9    | 0.687     |
| Skin lesions                     | 9.2     | 13.0      | 10.5    | 0.017     |
| <b>Diffuse symptoms</b>          |         |           |         |           |
| Pain                             | 82.9    | 86.2      | 84.0    | 0.075     |
| Dysuria                          | 24.3    | 19.8      | 22.8    | 0.031     |

\*Difference of proportion between genders according to symptoms

According to our severity index (SI), being in a higher category of SI was not associated with gender [OR: 1.11 for male vs female, 95 % CI:0.92-1.34] nor with type of fish consumed by patients [OR: 1.11 for carnivorous vs invertebrate eaters, 95% CI:0.66-1.82 and OR: 1.13 for herbivorous vs invertebrate eaters, 95 % CI:0.67-1.92]. A higher severity index was significantly observed with a 0.04 % increase in odds with each year of age. However, being in a higher category of SI was strongly associated with people aged in the second to fourth decade compared to other people [OR: 1.52, 95 % CI:1.25-1.81]. Moreover, no association was observed between the SI and the number of events of ciguatera disease per category (0, 1 and >1 event) (p=0.82). All aforementioned analysis was adjusted to archipelago of residency of the patient and the goodness of fit statistic indicated a good fit (p<0.05).



## Discussion

In this paper, we examined the temporal trends of ciguatera poisoning over a decade in French Polynesia and our results indicate a relatively constant annual incidence. However, compared to older data <sup>34</sup>, we observed a decrease in the incidence rates since 1973. It fell from 545 per 100 000 person-year (1973-1983) to 363 per 100 000 person-year in the 1992-2001 period (this study).

Throughout French Polynesia, we observed that the annual incidence rates varied considerably according to location, the time period and also in magnitude. Furthermore, a gradient of remoteness was observed; the archipelago furthest from Tahiti, Marquesas archipelago, was the chain of islands for which the annual incidence was the highest at all periods. This apparent gradient may reflect a differential information bias as the information recorded by the public health directorate is provided only by physicians from the public health sector. Public health care is more prevalent in remote archipelagos than in Society archipelagos where health care is also offered by the private sector. This bias would probably contribute to the lowest incidence rates observed in Society archipelago. Nevertheless, a similar gradient was also observed in a 25-year retrospective study (1960-1984) in French Polynesia <sup>200</sup>. Compared to this previous finding, incidence rates found here were generally lower but the largest variation was observed for Society archipelago where a ten-fold decrease was found. Differences in diet related to the sociological and geographical context of French Polynesia might also play a significant role in the results reported above. The Society archipelago includes Tahiti Island, the main island of French Polynesia, which is connected on a daily basis, by plane or boat, to other industrialized parts of the world. This particular context leads to diverse dietary habits that could modify the ciguatera exposure between the different French Polynesian archipelagos. The diet in Society archipelago is probably less based on fish than that of other remote archipelagos. A transition from traditional to occidental dietary habits which probably occurs in Society archipelago was also proposed for Pacific islands <sup>201,34</sup>. However, a complete dietary study would be required to examine reductions of fish consumption and their effect on ciguatera exposure.

In addition, we cannot rule out the influence of another relevant factor, the toxicity of fish which varies according to location<sup>200,121</sup>. Fish caught in Society have already been reported to be less toxic than those caught in remote archipelagos<sup>200</sup>. This variability has been recognized as linked to many factors such as ecological disturbances, quality and quantity of corals, water temperature, turbidity, salinity, etc.<sup>169,200,181,202,168</sup>. Moreover, we found that incidence rates changed according to season in all archipelagos. Our results corroborate previous findings<sup>44,169,121</sup> and could be explained by fluctuations of dinoflagellate organisms that are growth temperature dependant<sup>120,193</sup>.

As noted in earlier studies<sup>54,158,83,45</sup>, our results indicate a common increase of age-specific incidence rates with age. The adult group presenting the highest incidence rate. French Polynesians have an extensive traditional knowledge of this seafood poisoning, know the potential risk of eating reef fish and would prefer to give babies and children deep water fish instead of reef fish<sup>34</sup>. The different dietary habits among age groups may explain the age distribution of ciguatera poisoning.

As stated in previous studies, the incidence of ciguatera disease is suspected to be underestimated by physicians unfamiliar with the disease and by patients themselves<sup>34,35</sup>. In addition to the differential bias discussed above, our incidence rates may also suffer from selection bias related to individuals who choose to use traditional remedies until their state requires medical assistance<sup>34</sup>. This suggests that cases of ciguatera reported in our study as well as in earlier studies were probably the more severe cases, mild cases would not have been reported. However, nothing leads us to believe that under-declaration of patients would be different from one archipelago to another.

In the second part of the study, we analyzed individual cases recorded by the ILM that correspond only to 23% of cases recorded by the public health directorate during the same time period. Public health physicians provide these clinical records on a voluntary basis, therefore a selection bias may have been introduced into our results. The direction of this bias is difficult to predict as case records are probably related to the workload of physicians, interest for the program, etc. Moreover, we observed that the highest percentage of these records came from Society archipelago (32%), the rest of the records were equally

distributed across the three other archipelagos (around 20 percent each). Nevertheless, our results on types of symptoms reported and their frequencies are in accordance with previous results that have described the disease<sup>54,36,83,33,203</sup>. This suggests that our results are representative of ciguatera fish poisoning in the South Pacific as presented in the literature.

A detailed analysis of eleven symptoms experienced by patients reveals the excessive complexity of the ciguatera symptomatology as observed by others<sup>77</sup>. It also reinforces previous results that presented cardiac symptoms as an indicator of the severity of ciguatera disease<sup>77,83</sup> even though cardiac troubles were always observed in association with other types of symptoms in patients from our study. Nevertheless, the complexity of the diagnosis means that there is a crucial need for confirmatory laboratory testing that would be very useful for physicians.

We observed that a great proportion of patients were in their second to fourth decade of age which is consistent with other studies<sup>54,158,83,45</sup>. Moreover, we found that this age group suffered from more symptoms than other patients. This is also in accordance with previous results<sup>83</sup>. As earlier findings suggest, it is possible that our results are related to the amount of fish ingested; children eating smaller portions than adults<sup>43,45</sup>. Another possibility is the sensitisation process that increases with age<sup>54,158,83,45</sup>. However, our results did not corroborate this hypothesis. Older people (<65 yr) did not appear more afflicted with the disease than other groups as proposed in other studies<sup>83</sup>. More prospective follow-up work would be required to clarify to what extent age may be a prognosis of ciguatera disease.

Past studies have found that some symptoms vary according to gender and we observed similar results<sup>54,158</sup>. As proposed by Goodman and colleagues in 2003 and other researchers<sup>34,45</sup>, we believe that gender differences might be attributed to different dietary habits, leading to differential exposure to ciguatoxins.

Regarding fish consumption, we found no association between the type of fish consumed (herbivorous *vs* carnivorous) and the index of severity of the disease as well as type of symptoms. As showed by Legrand and Bagnis, (1991)<sup>200,189,158</sup>, we observed that

*Acanthuridæ*, *Serranidæ* as well as *Scaridæ* were among the most high-risk species in French Polynesia.

In summary, with regards to the question of whether there is a increasing trend of ciguatera over time, our results do not indicate an increase of the incidence. As presented by other researchers<sup>200,34</sup> ciguatera disease appears to be a complex problem in the South Pacific that needs to be handled differently according to the particular context of each island nation. Our results, then, suggest that risk management of ciguatera disease in French Polynesia might be adapted to the particular context of each archipelago. Since 1992, Lewis has deplored the inaccuracies of recorded data. Ten years later our results still suffer from this information bias. As proposed earlier, with the objective to improve management of the disease in endemic areas, there is a need to establish a surveillance program which accurately quantifies the incidence of the disease. However, as trends observed in previous studies suffered from the same type of bias, it is possible that our conclusions on the stability of rates are true.

The second part of this study allowed us to address the clinical profile of some patients who contracted ciguatera disease during the study period. Our results confirmed the gastro-neurological features of ciguatera. Further studies are nevertheless needed to specify and clarify factors that influence the severity of the disease.

## **Acknowledgments**

We would like to thank the Institut de Statistiques de Polynésie Française for providing us population data and Mrs Susan Gingras for her expertise in statistics.

## **CHAPITRE 4 : Prevalence of chronic symptoms of ciguatera disease in French Polynesians adults**

Auteurs :

Chateau-Degat M-L., Chinain M., Darius T., Legrand A-M., Nguyen N.L., Chansin R., Dewailly E.

La ciguatera est une intoxication alimentaire endémique aux zones tropicales dont la symptomatologie aiguë est bien connue. Or, certains paramètres telle la durée exacte de la maladie restent à définir. Les principaux objectifs de cette étude prospective étaient de déterminer la prévalence des symptômes chroniques à trois moments successifs et de rechercher les facteurs associés à la sévérité de la maladie chez des patients adultes de Polynésie Française. Dans la phase aiguë de la maladie, les résultats montrent clairement une relation dose-réponse entre la consommation d'organes de poisson et la sévérité de la maladie. Nos résultats suggèrent également la présence d'un stade chronique de la ciguatera dont certains symptômes tels les démangeaisons sont encore rapportés 2 mois après le début de l'intoxication. La durée de cette phase dépend en grande partie de l'indice de sévérité évalué en phase aiguë (OR:3.60 ; IC [1.72-7.53]).

## **Abstract**

Ciguatera disease is a seafood intoxication endemic in tropical areas. Although its acute symptomatology has been broadly identified, several unknown attributes of the disease such as its time span need to be determined. The main objective of this prospective study was to determine the prevalence of chronic symptoms at 15 days, 2 and 6 months after onset of the disease in French Polynesian adults. This study allowed us to investigate the factors associated with the severity of the illness in the acute and chronic stages. At the time of the onset, we observed a dose-response relationship featured by a strong association between the delay of appearance of symptoms and our severity index ( $p < 0.001$ ). Our results also showed that the amount of fish consumed was negatively associated with the risk of contracting a more severe ciguatera (OR:0.51; IC [0.3 - 0.8]). In the chronic stage, only the severity score based on information recorded in the acute phase seems related to the disappearance of symptoms (Severe vs light OR:3.32 IC [1.5 - 7.5]; Mild vs light OR:2.61 ; IC [1.2 - 5.8]). Moreover, our findings suggest that several symptoms observed in the acute phase of the disease are still persistent 2 months after the onset. Results from our investigation of 183 ciguatera patients support previous observations based on isolated case reports.

## Introduction

Ciguatera disease is a food borne poisoning induced by the ingestion of reef fish that have been contaminated by ciguatoxins produced by dinoflagellates like *Gambierdiscus* spp.<sup>60,204,151</sup>. This disease, widely spread in tropical areas, presents common and well-defined clinical signs and symptoms. At the onset, clinical manifestations of ciguatera are characterized by a myriad of rapidly appearing gastrointestinal, neurological and cardiac symptoms, occurring in just a few minutes to a few hours following the ingestion of contaminated fish<sup>60,174,15</sup>.

Gastrointestinal symptoms such as nausea, vomiting and diarrhoea are experienced during a short period of time in the acute phase of the disease. This phase has been defined by some authors as a period ranging from 2 days to one week<sup>60,174,15</sup>. Cardiac symptoms such as bradycardia are not present in all patients but have been proposed as a severity indicator of the disease<sup>43,83,15</sup>. These symptoms also seem to appear and withdraw within the first stage of the disease<sup>85</sup>. However, the chronology of neurological and diffuse manifestations is not as precise and seems to follow a different pattern<sup>54,77,42,15</sup>. Indeed, some case reports suggested that neurological and diffuse symptoms appeared later than gastrointestinal troubles did, and that they may persist for weeks, months and even years after the onset<sup>205,35,15</sup>. Although many outbreaks of ciguatera have recently been reported, epidemiological studies on the severity or duration of ciguatera disease are rare<sup>160,158,83</sup>. Thus, no consensus exists on the exact duration of these symptoms and some authors, such as Pearn (2001), deplore the lack of a survival curve of symptoms of ciguatera suitable for patients and the management of the disease<sup>15</sup>.

Although ciguatera disease presents a low fatality rate (<0.1%), it presents a large gradient of severity spreading from intermittent paresthesia in the mouth to severe polyneuropathy<sup>50,51,62,52</sup>. Severity of the disease in case reports is mainly based on the type of symptoms experienced by the patient. In epidemiological studies, severity was based on the sum of symptoms experienced by patients<sup>158</sup>, or on the presence of bradycardia and duration of the disease<sup>83</sup>, or the sum of symptoms adjusted according to the intensity of each symptom<sup>159</sup>. Despite the lack of a clear and precise definition of the severity of ciguatera, some studies

have identified potential effects of several factors. It has been suggested that severity varies according to age, gender and history of previous intoxications<sup>160,158,83</sup>. Indeed, one episode of ciguatera does not render the patient immune to future intoxications. On the contrary, it seems that individuals who experience a second episode of the disease are more sensitive and develop more severe symptoms than during their first episode<sup>54,158,17</sup>. Moreover, in many cases, recurrences of symptoms could have been triggered by fish, protein or alcohol consumption, physical activity, sexual intercourse or other individual susceptibility factors<sup>160,158,83,162,78</sup>. To our knowledge, no systematic study on a large sample of the population has been done on the frequency of persistence of neurological symptoms or on the determinants of this persistence. Yet, the influence of these factors on the severity of the disease during the acute and chronic phases required further exploration.

In this context, this paper presents results from a prospective study addressing the clinical evolution of ciguatera poisoning in French Polynesia. Specific objectives of this cohort study were to determine the prevalence of chronic symptoms at 3 different time point and to identify factors associated with this chronicity in adults suffering from this disease.

## **Subject and method**

This multicentric project encompassing all archipelagos of French Polynesia included patients with ciguatera disease aged 15 years and over. The initial cohort comprised 202 French Polynesian participants who contracted ciguatera between March 1<sup>st</sup> 2002 and March 31<sup>st</sup> 2004. The study was based on individual interviews conducted at 4 different points in time (T0, T1, T2, and T3). The first interview was conducted during the patient's first visit with his/her physician for ciguatera disease [0 to 7 days after seafood ingestion=T0]. The second interview (T1) took place 2 weeks after the first interview [ $\pm$  7 days]. The third (T2) and fourth (T3) interviews occurred 8 and 24 weeks [ $\pm$  7 days], respectively, after the first interview.

Ciguatera cases were diagnosed at the hospital or nursing stations. During medical consultations, health workers invited patients to participate in the study. After signing a consent form, patients completed an epidemiological questionnaire. Consent forms and



questionnaires were then sent by the health worker to the research team in Papeete at the Institut Louis Malardé. Each diagnosis of ciguatera was confirmed by a clinical investigator upon reception of the first epidemiological questionnaire and according to the case definition proposed in the medical literature and our exclusion criteria<sup>54,60,48</sup>. A ciguatera case was defined as the acute onset of neurological symptoms after (<12 hours) consuming a good-tasting local reef fish; typically these acute symptoms included paresthesia, troubles in cold perception with or without gastrointestinal symptoms such as vomiting and diarrhea. Exclusion criteria were any one of the following: 1) aged less than 15 years, 2) pregnancy, 3) leprosy or neurological disease, 4) ciguatera diagnosis more than 7 days after the onset of the disease. At this screening phase, we excluded 2 children aged less than 15 years of age and 17 patients who had been recruited in the study even though they did not respect the 7-day period defined in the protocol as the onset period. The final sample retained in our analysis included 183 patients.

We performed two sets of analysis according to the duration of the disease. The first set of analyses involved information recorded in the acute onset of the disease (T0) and the second set of analyses described the disease during the six months of the follow-up. At the time of onset (T0), socio-demographic status, lifestyle habits, ciguatera intoxication circumstances, previous ciguatera intoxications and symptoms were obtained by interviewing the patient. This first questionnaire allowed us to define a scale of severity of symptoms in the acute phase. Subsequent interviews (T1, T2, and T3) included questions on symptoms experienced by the participant, lifestyle habits, diet and physical activity over the seven days preceding each respective interview.

### **Parameters recording at the time of onset**

The symptoms scale was built from the 26 symptoms reported in the first questionnaire (T0). Next, we grouped symptoms and signs as follows: a-gastrointestinal symptoms (nausea, diarrhoea and vomiting); b-neurological symptoms (paresthesia, trouble with cold perception, headache, dental pain, metallic taste, vertigo, instability, lack of coordination, itching, hyper-salivation); c-cardiac symptoms (bradycardia, tachycardia, hypotension, hypertension); d-systemic symptoms (asthenia, myalgia, arthralgia, dysuria, fever, cervical

rigidity, respiratory distress, chills, sweating). A severity index of the disease was then created based on these classes of symptoms. This index, categorizing symptoms into three levels (light, moderate and severe), took into account if patients experienced only 1, 2, 3 or all classes of symptoms. The higher the index, the more severe the disease. Distribution of the population according to the index severity scale is presented in Table 8.

Anthropometric data were transformed into the body mass index (BMI:  $\text{Kg/m}^2$ )<sup>206</sup> and treated in the analysis in continuous form as age of patients. Smoking and alcohol consumption were treated in a dichotomized form. For all patients, regular physical activity was recorded. Regular physical activity was defined as practicing a sport more than once a week. All these variables were also recorded during the follow-up and were treated in statistical analysis in same form.

All patients provided information about the suspected toxic meal at the origin of their poisoning. They provided parts of the fish consumed (filet, viscera and head) and also documented the quantity ingested based on pictures of fish portions. These pictures had been previously used in a nutritional survey conducted in French Polynesia<sup>207</sup>. This allowed us to describe the parts of fish consumed according to 3 categories (filet only, viscera and head only and whole fish) and the amount of fish ingested in grams. This latest variable had a log-normal distribution and we log-transformed it for all analysis. We also obtained information on the type of fish consumed and dichotomized according to their diet, namely carnivorous versus other (herbivorous or invertebrate eater). The archipelago where fish had been caught was also recorded.

Finally, , we calculated the delay in hour between the ingestion of the potential toxic meal and the appearance of the first symptoms. This latest variable had a log-normal distribution and we log-transformed it for all analysis.

The number of ciguatera events in the past was also recorded in the questionnaire at time of onset. This information was separated into two levels (Never, 1 or more ciguatera events in the past). For more details on the questionnaire used see annex 1 of this document.

### **Parameters recording during the follow-up**

The 13 symptoms recorded over the three time periods of the follow-up were also scored on a severity scale based on Lange's <sup>159</sup> modified scale. All symptoms were recorded according to their frequency of persistence during the week preceding the interview (0: never experienced; 1: experienced once; 2: experienced twice during the week; 3: experienced three or four times and 4: experienced more than four times during the week). We summed each score per individual; sums varying between 0 and 52. Then, we aggregated this scale in four levels such as 0: asymptomatic patient, 1: mildly symptomatic (sum <12), 2: moderately symptomatic (12-26), 3: severely symptomatic (sum > 26). This dependent variable was also used in a dichotomous form (asymptomatic versus symptomatic patients).

In the follow-up, patients quantified their consumption of tobacco and alcohol during the seven days preceding the interview. Patients completed a specific dietary questionnaire where consumption of meat (beef, chicken, pork, corned beef, processed meat), fish (lagoon fish, ocean fish, seafood) and dairy products (milk, yoghurt, ice cream) were evaluated. This questionnaire provided information on type of protein consumed during the week preceding the interview. Each item was treated in a dichotomized form (intake vs non-intake ). For more details on the questionnaire used see annex 1 of this document.

### **Data analysis**

Summary data are expressed as means and standard deviations for continuous variables, or proportions for categorical variables.

At the time of onset; univariate ordinal logistic regressions were used to estimate the odds ratio (OR) of the severity of the disease according to factors recorded in the questionnaire. The models were built according to proportional odds assumption. The logits obtained were cumulative over the levels of response. The appropriateness and the goodness of fit for the proportional odds models were examined by testing the score and the Pearson statistics. The pre-selection criteria of a potential confounders was an association with dependant variable with a p value < 0.20 <sup>198</sup> We considered a confounding effect if the OR of severity

of the disease in the model showed a change of ten percent or more after adjustments with potential confounder.

For the follow-up data, in order to evaluate the persistence of symptoms, we treated data as repeated-measure outcomes using the Generalized Estimating Equation (GEE) approach adapted to ordinal outcomes<sup>208,209</sup>. This method provided standard errors adjusted by multiple observations per person using an independent correlation structure. This analysis provided cumulative logits that focused on the comparison of lower to higher values of the persistence scale symptoms according to factors recorded in the follow-up adjusted for time period. In this analysis the potential confounding effects of other variables were also examined with pre-selection criteria identical as those presented above.

Except for the selection of potential confounding variables in the multivariate analysis, by convention, we considered a p-value < 0.05 as statistically significant. All statistical treatments were performed using SAS software 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## **Results**

### **Acute phase (time of the onset)**

In this study 183 patients were recruited. Prevalence of symptoms is summarized in table 9. We noticed that a higher prevalence, 70 % and more, was observed in neurological and systemic symptoms categories. A lower prevalence was observed for the cardiac category. Moreover, we observed that a majority of patients experienced at least one neurological or systemic symptom (table 9). Moreover, we observed that all patients recruited experienced at least one neurological or systemic symptom (table 9). Only one patient reported systemic and gastrointestinal symptoms and without neurological signs

Table 8 presents anthropometric and socio-demographic characteristics of patients retained in the analysis according to the scale of severity of the disease. The three severity groups of patients appeared very similar with respect to factors studied (table 8) except for delay of appearance of symptoms, the delay before consultation and the quantity of fish ingested (all p-value <0.01).

As presented in Table 10, no significant association was detected between the severity of the disease and gender, age, BMI, alcohol consumption, regular physical activity or smoking. However, patients living in remote archipelagos seemed to show a two-fold increase in prevalence of more severe ciguatera than those living in the Society archipelago (Table 10) but this result was not statistically significant ( $p=0.12$ ). Patients who had experienced ciguatera disease in the past (1 event or more) showed a tendency to be at a greater risk of developing more severe ciguatera than others but, this was not statistically significant ( $p=0.08$ , Table 10). Furthermore, we observed that the quantity of fish consumed was negatively associated with the risk of having more severe ciguatera (OR:0.51, CI [0.31-0.77]). Inversely, a short delay in the appearance of symptoms was positively associated with the risk of having a more severe ciguatera. These two factors remained significantly associated with the severity of the disease after adjustments. Part of fish consumed also appeared significantly associated with the severity of the disease but failed to reach statistical significance after adjustment (Table 10). Moreover, patients who ate carnivorous fish seemed to have a two-fold increase in the risk of developing a more severe disease than patients who ate other species, but this was not statistically significant.

Tableau 8: Demographic, anthropometric, social and epidemiologic characteristics of the study population according to scale of severity of the disease at the onset

| Characteristics  | Scale of severity of disease at the time of onset |               |                 | P-value |
|--|---|---------------|-----------------|---------|
|  | Light‡<br>n=47                                    | Mild‡<br>n=78 | Severe§<br>n=58 |         |
| <b>Sex ratio (male/female)</b>                             | 0.8   | 1.1           | 0.7             | 0.67    |
| <b>Archipelago (%)</b>                                     |   |               |                 | 0.09    |
| Remote ( Marquesas; austral , Tuamotu)                     | 10.6  | 21.8          | 24.1            |         |
| Society  | 89.4  | 78.2          | 75.9            |         |
| <b>Age (years)*</b>  | 40.3 ± 12.1                                       | 41.3 ± 12.0   | 43.9 ± 13.2     | 0.30    |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)*</b>                             | 27.7 ± 6.0  | 29.9 ± 6.2    | 28.2 ± 5.9      | 0.21    |
| <b>Ethnic origin (%)</b>                                   |   |               |                 | 0.24    |
| Polynesians  | 83.0  | 75.6          | 87.9            |         |
| Mixed  | 14.9  | 15.4          | 8.6             |         |
| Chinese  | 2.1   | 3.8           |                 |         |
| European   | 0.0   | 5.2           | 3.5             |         |
| <b>Physical activities (%)</b>                             |   |               |                 | 0.55    |
| ≥ Once a week  | 34.0  | 53.9          | 41.1            |         |
| < Once a week  | 66.0  | 46.1          | 58.9            |         |
| <b>Alcohol habits (%)</b>                                  |   |               |                 | 0.69    |
| Consumer   | 57.4  | 61.3          | 61.4            |         |
| Non consumer   | 42.6  | 38.7          | 38.6            |         |
| <b>Smoking habits (%)</b>                                  |   |               |                 | 0.21    |
| Smokers  | 36.2  | 49.3          | 49.2            |         |
| Non-smokers  | 63.8  | 50.7          | 50.8            |         |
| <b>Past ciguatera events (%)</b>                           |   |               |                 | 0.10    |
| never  | 25.5  | 25.6          | 39.7            |         |
| Once and more  | 74.5  | 74.4          | 60.34           |         |
| <b>Delay between meal and onset of symptoms (hour)*</b>    | 9.4 ± 8.0   | 8.3 ± 7.1     | 5.9 ± 5.6       | 0.03    |
| <b>Delay in consulting after onset of symptoms (days)*</b> | 2.6 ± 2.0   | 2.1 ± 1.6     | 1.7 ± 1.6       | <0.01   |
| <b>Fish (gr) ¥*</b>  | 552.0 ± 785.3                                     | 293.3 ± 192.5 | 267.7 ± 263     | <0.001  |
| <b>Part of fish consumed (%)</b>                           |   |               |                 | 0.02    |
| Whole fish   | 30.8  | 31.4          | 21.6            |         |
| Filet  | 66.67   | 51.4          | 52.9            |         |
| Organs   | 2.5   | 17.1          | 25.5            |         |

‡: GS, N, NC, NS, NG; †: NGS, NGC, NSC; §: NGCS; N: Neurological; G: Gastrointestinal; C: Cardiac; S: Systemic \* : mean ± Sd; ¥: fish size meal consumed before the onset of the disease

Tableau 9: Prevalence of symptoms experienced by patients in the acute phase of the disease (0-7 days after ingestion of toxic meal)

| Symptoms                 | N   | Prevalence % | Experienced at least one symptom of the category % |
|--------------------------|-----|--------------|--|
| <b>Gastrointestinal</b>  |     |              | <b>68.8</b>  |
| Diarrhoea                | 182 | 62.6         |  |
| Nausea                   | 182 | 45.6         |  |
| Vomiting                 | 182 | 21.9         |  |
| <b>Cardiac</b>           |     |              | <b>40.4</b>  |
| Bradycardia              | 159 | 28.9         |  |
| Tachycardia              | 159 | 3.1          |  |
| Hypotension              | 165 | 20.6         |  |
| Hypertension             | 165 | 5.4          |  |
| <b>Neurological</b>      |     |              | <b>99.6</b>  |
| Paresthesia Leg          | 182 | 87.9         |  |
| Arm                      | 182 | 86.8         |  |
| Lips                     | 182 | 82.4         |  |
| Dysesthesia              | 182 | 91.2         |  |
| Headaches                | 182 | 56.0         |  |
| Dental pain              | 182 | 24.7         |  |
| Metallic taste           | 182 | 57.7         |  |
| Vertigo                  | 182 | 48.9         |  |
| Instability              | 179 | 54.2         |  |
| Lack of coordination     | 182 | 19.2         |  |
| Itching                  | 182 | 63.7         |  |
| Hypersalivation          | 181 | 26.0         |  |
| <b>Systemic symptoms</b> |     |              | <b>95.6</b>  |
| Asthenia                 | 182 | 87.4         |  |
| Myalgia                  | 182 | 71.4         |  |
| Arthralgia               | 182 | 70.3         |  |
| Chills                   | 182 | 74.2         |  |
| Sweating                 | 182 | 52.7         |  |
| Fever                    | 182 | 24.7         |  |
| Neck stiffness           | 181 | 34.8         |  |
| Respiratory distress     | 181 | 33.1         |  |
| Dysuria                  | 182 | 36.8         |  |

Tableau 10: Odds ratios of the severity (light, mild, severe) of ciguatera disease in the acute phase according to risk factors

| Factors  | N   | Crude odds ratio | 95% CI        | Adjusted odds ratio | 95% CI        |
|--|-----|------------------|---------------|---------------------|---------------|
| <i>Anthropometrics data</i>  |     |                  |               |                     |               |
| <b>Archipelagos (Remote vs. Society)</b>                                     | 183 | 1.75             | [0.89 - 3.47] | 2.03                | [0.99 - 5.00] |
| <b>Sex (Female vs. Male)</b>   | 183 | 1.13             | [0.66 - 1.94] | -                   |               |
| <b>Age</b>   | 183 | 1.02             | [0.99 - 1.04] | -                   |               |
| <b>BMI</b>   | 183 | 1.00             | [0.96 - 1.04] | -                   |               |
| <i>Lifestyle</i>   |     |                  |               |                     |               |
| <b>Smoking</b>   |     |                  |               | -                   |               |
| Smoker vs. non-smokers   | 179 | 1.41             | [0.82 - 2.44] |                     |               |
| <b>Alcohol</b>   |     |                  |               | -                   |               |
| Consumers vs. non-consumers  | 179 | 1.12             | [0.64 - 1.95] |                     |               |
| <b>Regular Physical Activity</b>   |     |                  |               | -                   |               |
| Once a week and more vs. less  | 178 | 1.16             | [0.67 - 2.00] |                     |               |
| <b>Past history of ciguatera disease</b>                                     |     |                  |               | -                   |               |
| 1 event and more vs. None  | 183 | 1.67             | [0.92 - 3.02] |                     |               |
| <i>Factors related to toxic fish consumed</i>                                |     |                  |               |                     |               |
| fish ingested (gr) ¥   | 158 | 0.57             | [0.38 - 0.85] | 0.51 <sup>a</sup>   | [0.31 - 0.77] |
| <b>Part of fish consumed</b>   |     |                  |               |                     |               |
| Filet vs Whole fish  | 158 | 1.08             | [0.56 - 2.12] | 0.78 <sup>c</sup>   | [0.37 - 1.64] |
| Organs vs Whole fish   |     | 3.26             | [1.26 - 8.29] | 2.10                | [0.65 - 6.80] |
| <b>Part of fish consumed</b>   |     |                  |               |                     |               |
| Filet vs Organs  | 115 | 0.34             | [0.15 - 0.80] | 0.34 <sup>c</sup>   | [0.11 - 1.04] |
| <b>Fish species</b>  |     |                  |               |                     |               |
| Carnivorous vs. other  | 177 | 1.83             | [0.98 - 3.41] | 2.04 <sup>b</sup>   | [0.99 - 4.20] |
| <b>Origin of fish</b>  |     |                  |               |                     |               |
| Remote vs. Society archipelago   | 100 | 2.18             | [0.97 - 4.88] | -                   |               |
| <b>Delay between meal consumption and appearance of symptoms<sup>¢</sup></b> |     |                  |               |                     |               |
|  | 174 | 0.72             | [0.55 - 0.90] | 0.64 <sup>c</sup>   | [0.47 - 0.87] |

a: adjusted for delay; b: adjusted for logarithm of quantity of fish consumed, fish species and delay; c adjusted for logarithm of quantity of fish consumed, the archipelago and part of fish consumed. ¥: fish size meal consumed before the onset of the disease in logarithm; ¢: delay in logarithm.

### Follow-up of chronic symptoms

At the time of recruitment, all patients agreed to participate in all interviews. However, among patients included in the study, only 62 % completed the second questionnaire, 36 % answered the third questionnaire and only 13 % of patients met their physician for the fourth interview. According to the severity scale of the disease obtained at the time of onset, patients who completed all questionnaires were similar to others (p=0.84). These groups



were also similar in age ( $p=0.39$ ), gender ( $p=0.84$ ), archipelago of residence ( $p=0.42$ ), and lifestyle habits (smoking:  $p=0.83$ ; alcohol consumption:  $p=0.28$ ; regular physical activity:  $p=0.40$ ). Moreover, when examining the data at each point in time, it suggests that patients who left the study were not proportionally less affected by the disease than others (at the second interview:  $p=0.97$ ; at the third interview:  $p=0.66$ ; at the fourth interview:  $p=0.98$ ). Despite these similarities, we decided to exclude the data from the fourth interview in subsequent analyses due to important losses to follow-up.

We calculated the prevalence of 13 symptoms over a 2-month period of study. This allowed us to construct the scale of persistence of symptoms. The distribution of the patient population according to this scale is presented in figure 10.

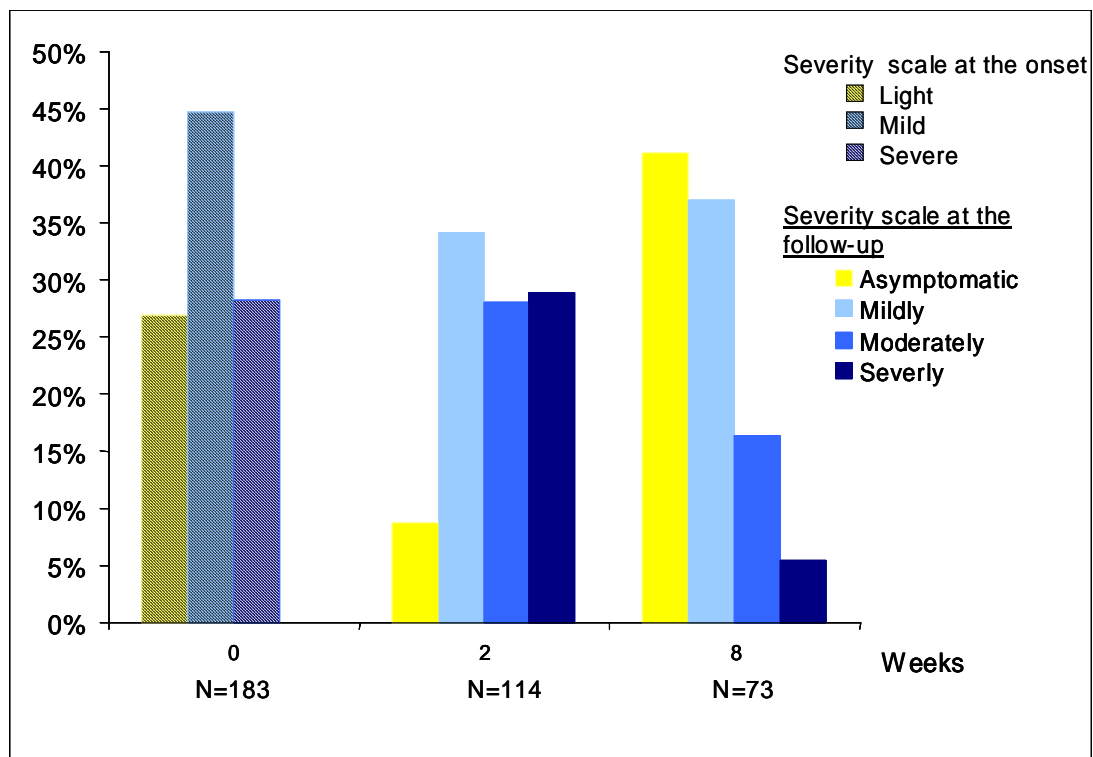


Figure 10: Proportion of patients according to scale of symptoms experienced over a 2-month periods (n: number of patients included in each phase).

As presented in Figure 11, the prevalence of different symptoms experienced shows a common linear decrease over the 2 months but not one had totally disappeared 2 months after the onset. We noticed that at 15 days after the onset, the most prevalent symptom was itching (64 %) and it remained the most prevalent symptom of the neurological category at 2 months, although it was not among the symptoms more prevalent at the time of onset.

In bivariate GEE ordinal logistic analysis, only smoking and severity of the disease recorded at the time of onset were associated with the persistence of symptoms. Smokers had a two-fold increase in the risk of seeing their symptoms persist compared to non-smokers, no matter what time period considered or severity of the disease. Moreover, we observed an increased risk of persistence of the symptoms for each increase on the severity scale at the onset (table 11). In other words, patients with a mild case of ciguatera disease at the onset had 2.6 times higher odds of seeing their symptoms persisting compared to patients with ciguatera qualified as light. Patients with a severe ciguatera at the onset had a threefold increase in risk of seeing their symptoms persist compared to patients with light ciguatera ( Table 11).

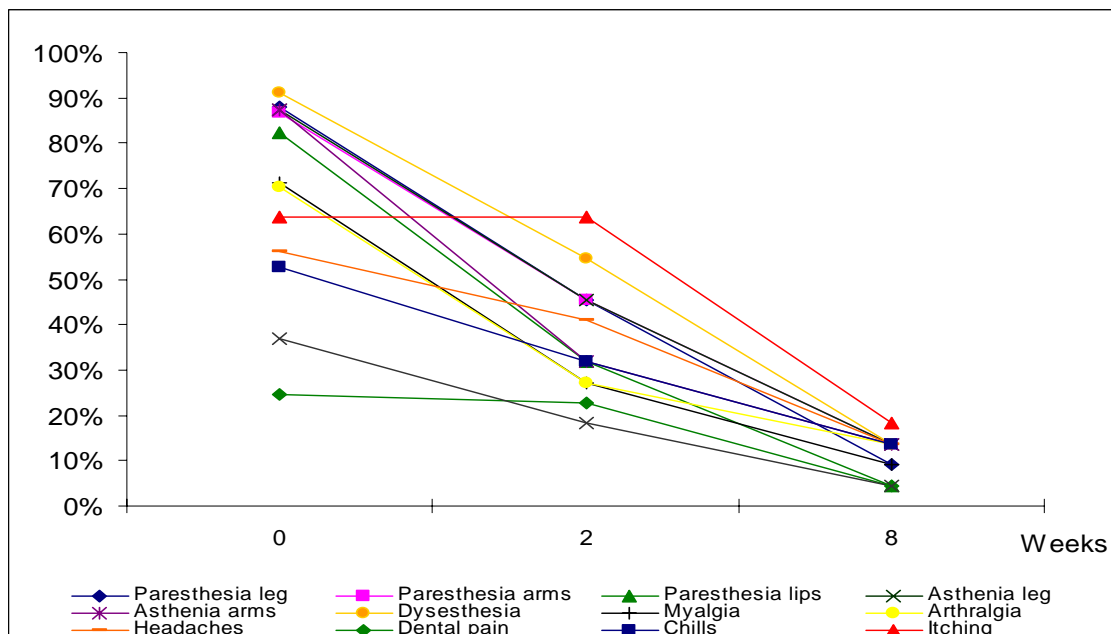


Figure 11: Prevalence of symptoms of ciguatera disease over a 2-month period (0: at onset, 2: 15 days, 8: two months later)

Tableau 11: Odds ratio of the persistence scale of symptoms recorded during the follow-up (Asymptomatic to severely affected) according to factors recorded 7 days before each interview

| <b>Factors</b>   | <b>Odds ratio*</b> | <b>Confidence Interval 95%</b> |
|--|--------------------|--------------------------------|
| <b>Archipelagos</b>  |                    |                                |
| (remote vs. Society)   | 0.65               | 0.30 - 1.42                    |
| <b>Gender</b> (Female vs. Male)                                | 0.97               | 0.62 - 1.78                    |
| <b>Age (years)</b>   | 1.02               | 0.99 - 1.05                    |
| <b>BMI</b>   | 0.97               | 0.93 - 1.02                    |
| <i>Lifestyle</i>   |                    |                                |
| <b>Smoking</b>   |                    |                                |
| Smoker vs. non-smokers   | 1.89 **            | 1.06 - 3.37                    |
| <b>Alcohol</b>   |                    |                                |
| Consumers vs. non-consumers                                    | 0.74               | 0.25 - 2.12                    |
| <b>Regular Physical Activity</b>                               |                    |                                |
| Once a week and more vs. less                                  | 1.30               | 0.74 - 2.28                    |
| <b>Food Consumed §</b>   |                    |                                |
| Beef   | 0.70               | 0.38 - 1.28                    |
| Corned Beef  | 0.95               | 0.51 - 1.78                    |
| Chicken  | 0.91               | 0.45 - 1.80                    |
| Pork   | 1.44               | 0.86 - 2.40                    |
| Processed Meat   | 1.26               | 0.73 - 2.16                    |
| Ocean fish   | 0.83               | 0.44 - 1.56                    |
| Lagoon fish  | 1.20               | 0.67 - 2.13                    |
| Seafood  | 0.67               | 0.34 - 1.32                    |
| Eggs   | 1.08               | 0.62 - 1.90                    |
| Cheese   | 0.90               | 0.51 - 1.60                    |
| Yoghurt  | 0.92               | 0.52 - 1.61                    |
| Ice Cream  | 1.61               | 0.91 - 2.86                    |
| Milk Products  | 1.03               | 0.96 - 1.10                    |
| Nuts   | 0.97               | 0.51 - 1.85                    |
| <i>Factors recorded In the acute phase</i>                     |                    |                                |
| <b>Fish species</b>  |                    |                                |
| (carnivorous vs other)   | 0.66               | 0.34 - 1.29                    |
| <b>Fish Consumption (gr) ¥</b>                                 | 0.88               | 0.60 - 1.27                    |
| <b>Part of fish consumed</b>                                   |                    |                                |
| Filet vs Whole fish  | 0.69               | 0.32 - 1.47                    |
| Organs vs Whole fish   | 1.01               | 0.41 - 2.53                    |
| <b>Severity Scale at the onset</b>                             |                    |                                |
| Severe vs light  | 3.32 **            | 1.49 - 7.45                    |
| Mild vs light  | 2.61**             | 1.17 - 5.75                    |
| <b>Delay between meal consumption &amp; symptoms ( hour) ¢</b> |                    |                                |
|  | 0.91               | 0.67 - 1.24                    |

\*: No confounding was found; §: all variable in this category was treated intake vs non-intake; ¥: fish size meal consumed before the onset of the disease in logarithm; ¢: delay in logarithm \*\*: p<0.05.

## Discussion

We found similar prevalences of symptoms to those reported in the literature (see table 9)<sup>54,188,167,60,48,80,105</sup>. Our results also confirm that ciguatera disease is a polymorphic disease with a noteworthy prevalence of neurological symptoms as most of our patients (99 %) reported at least one neurological trouble.

Even if a common description of ciguatera cases exists, we noticed, as proposed by others<sup>60</sup>, that the number of symptoms experienced and the type of symptoms experienced simultaneously vary considerably from one patient to another. Consequently, we aimed to identify factors that influenced these differences. Our results highlighted a predominant influence of factors related to fish consumption, which play a key role in the quantity of ciguatoxin ingested. First, we observed a dose-response relationship featured by the association between the delay of appearance of first symptoms and the severity of the disease. This was previously noticed by Lange in 1992 who observed that high levels of toxicity in fish seemed to produce an early severe clinical picture.<sup>160</sup> Secondly, some authors suggested that larger carnivorous fish were the species with higher concentrations of ciguatoxins and therefore more likely to produce severe ciguatera disease<sup>158</sup>. Our results tend to confirm this assumption and an increase in the prevalence of the severe form of the disease seemed to be observed when people ate carnivorous fish compared to patients who ate other species. These results do not, however, reach statistical significance. Thirdly, we found that people who consumed viscera (head, liver or gonad) were more likely to develop more severe ciguatera than those who only ate filet, but this failed to reach significance after adjustment. However, this result tends to be in accordance with other observations and biological studies that present organs (head, liver or gonad) as tissues showing the highest concentrations of the toxin in fish<sup>121,35</sup>. The distribution of toxins in fish that seems to be observed in our results, is reinforced by a decrease of the severity of symptoms according to an increase of fish intake observed in this study. Despite the fact that organs may be considered as reservoirs for toxins, there is growing evidence that all fish (from cold and warm waters) contain polyunsaturated fatty acids (PUFA) known for their neuroprotective action<sup>163</sup>. Hence, we cannot rule out an eventual influence of fish fatty acids intake on the

decrease in severity observed. This last point may have an important impact in terms of disease prevention and would require further studies.

In earlier studies, authors had reported associations between individual factors such as age, gender, or ethnic origin and severity of disease<sup>54,158,83</sup>. Among factors proposed in the literature, lifestyle factors and past experience of ciguatera disease have also been cited<sup>54,158,83</sup>. In this study we found none of these associations. However, we did observed trends: 1- people in remote archipelagos tend to have more severe ciguatera than patients living in Society archipelago; 2: patients who ate fish caught in remote archipelagos tend to have more severe ciguatera than others. Because of these trends and similarities observed between populations with respect to gender, age, ethnicity, alcohol consumption, etc.(data not showed), we suspected that severity may be influenced by fish toxicity which would be different according to location. This interesting hypothesis, however, requires to be clarified in future investigations.

Our analysis of the persistence of symptoms of ciguatera showed that no symptoms had totally disappeared 2 months after the onset but all showed a prevalence inferior to 30%; a major part of the symptoms was reported between 10 % to 20 % of cases. These results reinforce previous observations<sup>42</sup> that suggest that approximately 20% of patients had symptoms persisting for months. Moreover, we noticed that symptoms most frequently reported at 2 months were mainly systemic symptoms such as asthenia, myalgia and headaches. A similar association of symptoms had been previously observed by Pearn and described an evolution of ciguatera disease that could be linked to chronic fatigue syndrome<sup>161</sup>. Our results also corroborated remarks from Shnorf and colleagues in 2002 who proposed pruritus as a late clinical manifestation of ciguatera disease<sup>105</sup>. Apart from its tardy appearance, pruritus appears in our study as a long lasting symptom with a high prevalence among patients at every time period. This could explain the common name “Gratte”- (Itching) given to ciguatera disease in most of the South Pacific. The late apparition and the long lasting of this symptoms allow to propose itching as the characteristic signs of the chronic stage of ciguatera disease, just as cold allodynia is for the acute onset of the disease.

In our study only two factors were clearly associated with the persistence of symptoms. The first one is the severity scale defined at onset. Patients with a severe ciguatera experienced symptoms for a longer period than people with a less severe ciguatera. The second factor is tobacco consumption that seems to impede improvement of the disease. This association with smoking was observed for the first time in this study, and further studies are required to clarify the intervention of tobacco as risk factor of the persistence of symptoms. Moreover, some authors<sup>36,210,158</sup> have noticed worsening symptoms related to alcohol, protein, as well as fish consumption. In our results, none of these factors seemed significantly associated with the persistence of symptoms.

This study suffers from a lack of power related to the sample size of the study and of which results some tendencies observed here. The second main limitation of this study is the loss of patients during the follow-up. However, inspection of data, showed that patients who left the study were similar than patients who decided to continue. Thus, we are confident that patients who stayed in the study were not only people who were severely ill, nor did they and by the same way introduced an important overestimation of the prevalence of chronic symptoms. Main hypotheses that could explain the important loss to follow-up are time and nature of symptoms experienced. Despite these limits, we are nevertheless confident that our results are representative of the general time-course of the disease, at least for the first 2 months following the disease. Indeed, this first study of a large sample of patients followed over 2 months, using severity scores based on a reliable and valid scale<sup>159</sup>, showed that 60 % of patients were still symptomatic 2 months after the onset and 20 % of those were moderately to severely affected, corresponding to the experience of at least one symptom every day (on average). In light of these results, it would be interesting in future investigations to corroborate our observations and to go into detail using objective measures of symptoms experienced by patients in order to clarify the magnitude of symptoms reported. At a prevention level our results corroborate and reinforced previous conclusions that have contributed to the development of fish consumption advisories on the avoidance of viscera consumption (head, gonad, liver) of high risk species.

## **Acknowledgments**

We are grateful to local general practitioners for their participation to this study and to patients for their co-operation. We thank Mrs Susan Gingras for her expert advice on statistical analysis. The authors also thank Center for Control disease for financial support of the study.

## **CHAPITRE 5 :Neurological signs of ciguatera disease: evidence of their persistency**

Auteurs:

Chateau-Degat M-L., Beuter A., Guglielmetti P., Legrand A-M., Chinain M., Darius T., Nguyen N.L., Chansin R.,Dewailly E.

### **Résumé**

Le principal effet des ciguatoxines s'exerce au niveau des canaux sodiques voltage-dépendant membranaire des tissus nerveux dont découle l'impressionnante symptomatologie neurologique de la ciguatera. Une étude comparant 47 patients à 125 témoins adultes de Polynésie Française sur une période de 2 mois a été réalisée, afin de déterminer la persistance de signes neurologiques. Les résultats montrent que la ciguatera altère de manière prédominante le système nerveux périphérique. Dans la phase aiguë, les patients présentaient principalement des perturbations sensorielles caractérisées par une hypoesthésie et un déficit de l'équilibre postural par rapport aux témoins. Au cours des deux mois de suivi, les résultats montrent une amélioration des performances dans l'équilibre postural rejoignant les valeurs des témoins. Par contre, l'hypoesthésie est encore observable chez plus de 50 % des patients. Nos résultats confirment donc l'existence d'altérations neurologiques et suggèrent leur persistance au moins deux mois après le début de l'intoxication.



## **Abstract**

Seawater is a natural reservoir for highly potent toxins, such as ciguatoxins that exert their deleterious effect on humans after consumption of good tasting reef fish. The main effect of these toxins is on the voltage-sensitive sodium channels of the cellular membrane of all excitable tissues, which confers to ciguatera disease its neurological hallmarks. In order to characterize and determine the persistence of chronic neurological symptoms of ciguatera, we conducted a case-control study among French Polynesian adults over a 2-month period. In this study, where we compared 47 patients with ciguatera disease to 125 ciguatera-free people, we observed that ciguatera disease predominantly altered the peripheral sensory system. In the acute phase of the disease, patients mainly presented sensory disturbances as detected by an hypoesthesia on the palm of the hand and poorer sway performance, compared to controls. No alterations on hand coordination abilities were detected. Over three testing periods over a two-month follow-up, we observed an improvement of sway performances until it reached the levels observed in controls. However, for light-touch threshold even if we observed a decrease threshold towards normal values, more than 50% of patient could not reach “normal values” 60 days after onset of the disease. Our results support the existence of neurological impairments of ciguatera disease and suggest their persistence for at least two months after onset.

## Introduction

Besides the undeniable nutritional benefits on human health provided by marine products, seawater is also a natural reservoir for microorganisms that have the potential to cause illness in humans. Although numerous different toxins exist, they all have some common characteristics. Marine toxins are highly potent in living organisms, the time of symptom onset is very short, they are generally undetectable in seafood by human senses and most toxins act on neural cells and particularly at the membrane level <sup>68,211</sup>. Diseases induced by marine toxins are relatively well identified and known as Amnesic Shellfish Poisoning (ASP), Ciguatera Poisoning (CP), Diarrheic Shellfish Poisoning (DSP), Neurologic Shellfish Poisoning (NSP), Paralytic Shellfish Poisoning (PSP), Pfiesteria associated syndrome, Scombroid fish poisoning and Tetrodotoxin intoxication. Gastrointestinal and neurological symptoms are generally experienced together in these types of intoxications, though they may vary in magnitude according to the toxins involved. However, these symptoms are generally transient (disappearing in a few days). This last feature sets ciguatera poisoning apart from other seafood intoxications in that several symptoms of ciguatera have been reported to exist for months <sup>153,29,162,212,64,15</sup>. This unsolved particularity is still a stumbling block for the management of the disease.

Symptoms that appear long lasting in ciguatera disease involve peripheral sensory and motor systems <sup>15</sup>. Among the troubles observed, paresthesia, dysesthesia, dizziness, ataxia, general weakness and mood disorders are often reported. To this day, knowledge about chronic neurological disorders related to this marine toxin poisoning is partial, as it has been mostly obtained from isolated case reports in which patients were followed for weeks or months after the onset of ciguatera <sup>212,213</sup>. Thus, no exact duration of persistence of symptoms has been determined. However, in our recent study we observed that some patients experienced symptoms up to 2 months after the onset <sup>214</sup>.

Reviewing the literature on this intoxication shows that at both the acute and chronic stages of the disease, information obtained from large samples of patients are mainly based on general diagnosis and patients' perceptions <sup>215,54,210</sup>. Studies presenting a detailed neurological examination are scarce and for the most part address patients who required

hospitalization<sup>77,132,162,212,154,64,155</sup>. However, both clinical case reports and epidemiological studies concluded on peripheral and central involvement in impairment seen in ciguatera disease which corroborate findings from experimental studies<sup>216,217,66,72</sup>. Because the neurological symptoms are extremely common in this disease, in both the acute and chronic phase, a more detailed description of the motor and sensory disturbances from a clinical examination coupled with an objective evaluation is warranted.

In case reports a recurrence of symptoms has often been presented by authors. This reoccurrence seems to be triggered by a number of factors including fish consumption, alcohol use, physical activity<sup>73,158,83,17,157</sup>. However, to our knowledge, no systematic study has been done on the frequency of reoccurrence of the neurological symptoms nor on the determinants of this reoccurrence. Moreover, it is well recognized that fish consumption by humans is the principal source of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and methylmercury, which have neuroprotective and neurotoxic actions, respectively<sup>218,219,166</sup>. Therefore, while examining the link between ciguatera and its neurological effects, it is essential to consider these additional and potentially confounding factors as they have yet to be investigated.

The following prospective study carried out in French Polynesia aimed to characterize neurological symptoms of ciguatera disease and to determine their persistence over time. The neurological evaluations were performed among French Polynesian adults suffering from ciguatera and ciguatera-free participants.

## **Subject and methods**

### **Protocol**

This prospective study that compared a group of patient with ciguatera disease to a group of healthy people was conducted in French Polynesia between March 2001 and June 1<sup>st</sup> 2004. The study involved blood sampling, a neurological detailed evaluation using a standardized para-clinical and clinical neurological examination including motor and sensory tests conducted at 3 different points in time (T0, T1, and T2). The first (T0) testing took place

when ciguatera was declared to the research team. The second (T1) and third (T2) sessions took place 2 and 8 weeks, respectively, after the first session was held. All participants of the patient group were asked to participate in all four sessions, healthy subjects participated only in one session. All patients and healthy people signed an informed consent form.

The study included 65 patients with ciguatera disease and 130 ciguatera-free subjects. All participants were adults aged 18 years old and over from the Tahiti and Moorea islands. From this sample, we excluded 18 cases and 5 controls due to missing data on neurological testing. The final sample retained in our analysis included 47 exposed and 125 subjects participants.

The case definition of ciguatera and exclusion criteria used were the same as specified previously<sup>214</sup>. Briefly, control participants were volunteers from the Tahiti and Moorea Islands who responded spontaneously to a press release about the study (90% of controls and 10% were friends of patients). As no simple measures of ciguatoxins in blood were available, we ensured that controls were ciguatera-free by asking them if they had consumed reef fish in the last 12 hours before recruitment and if they were experiencing any gastrointestinal or neurological symptoms typically associated with ciguatera disease. Additionally, people who had suffered from ciguatera disease over the year preceding the study period were excluded from the subjects group. According to these criteria, no healthy people was excluded.

### **Neurological evaluation**

The neurological clinical examination is a standardized 20-minute test. Two physicians from our research team performed this evaluation. In order to reduce multiple evaluator bias, physicians completed a standardized check-list of symptoms (see annex 2 of this document). All participants also answered questions on symptoms experienced at the time of the interview.

## **Motor evaluation**

Neuromotor evaluations were performed by a nurse and a PhD student. Specific motor functions were quantified with a computerized test. Reliability criteria of the tests such as validity, specificity and sensitivity have been verified in a number of populations<sup>220,221</sup>. Hand coordination and postural stability were tested with CATSYS Test System developed by the Danish Product Development Company. All hand coordination testing was performed with the right and left hands. Motor evaluations were performed according to the same specific sequence i.e. reaction time (right and left hand), sway measurements (open and closed eyes), tremor evaluation (right and left hand), pronation/supination test (right and left hand) and finally, finger tapping (right and left hand). This sequence was developed in order to minimized the influence of stress on tremor evaluation. The testing period of each test and metronome beat was the same as that used by Deprés *et al.*, 2000<sup>222</sup>. In our statistical treatment, we used parameters estimated by CATSYS system except for the harmonic and tremor indexes on which we applied the modification proposed by Edwards & Beuter,1999<sup>223</sup>. Table 12 presents definitions of specific parameters provided by CATSYS.

Tableau 12: Definitions of characteristics selected for the analysis

| Parameters                        | Definition  | Scale*  |
|-----------------------------------|---|---|
| <b>Reaction time (RT)</b>         | Mean of all reaction time obtained during the test. - Unit: second  | Larger value indicates poorer performance   |
| <b>Finger tapping</b>             |   |   |
| Rhythmic regularity (sP)          | Rhythmic regulation to keep up precision- Unit: dimensionless   | Value always positive, smallest value indicate best regularity  |
| Precision (P)                     | Mean of accuracy of contact in relation to metronome sound Unit: second   | value nearest zero indicates a best precision   |
| Maximum Frequency                 | Maximum frequency obtained in Hz  | Larger value indicates best performance   |
| <b>Pronation &amp; Supination</b> |   |   |
| Rhythmic regularity (sP)          | Rhythmic regulation to keep up precision- Unit: dimensionless   | Value always positive, smallest value indicates best regularity   |
| Precision (P)                     | Mean of accuracy of contact in relation to metronome sound Unit: second   | value nearest zero indicates a best precision   |
| Maximum Frequency                 | Maximum frequency obtained in Hz  | Larger value indicates best performances  |
| <b>Tremor</b>                     |   |   |
| Tremor intensity (T Index)        | The root mean square of acceleration recorded in the 0.9 - 15 Hz band. Unit: $m*s^{-2}$   | Larger values indicate more tremor  |
| Frequency center (F50)            | The median frequency of the acceleration in the 0.9 -15Hz band. Unit: Hz or $s^{-1}$  |   |
| Frequency dispersion (SF50)       | Degree of irregularity of the tremor. Frequency band centered around the median frequency which contains 68% of the power. Unit: Hz   | A regular tremor has a small SF50 indicating that most of the area is within a narrow frequency band (e.g: pathological tremor) |
| Harmonic index (HI)               | Compares the tremor frequency pattern of a single harmonic oscillation, which has a HI=1.00. Unit: dimensionless  | HI decreases when the tremor is composed of many oscillations.  |
| Tremor index (TI)                 | Overall summary index, which is the root mean square of Z scores of the four previous measures. Unit: dimensionless   | Above 1.55 tremor may be considered as abnormal <sup>223</sup>  |
| <b>Postural sway</b>              |   |   |
| Mean Sway                         | Mean of the distance from the mean force center position to all recorded force center positions during the test. Unit: mm   | Larger value indicates poorer ability in postural sway  |
| Transversal Sway                  | Mean of the recorded x-direction values of the force center in a coordinate system. Unit: mm  | Larger value indicates poorer ability on transversal sway   |
| Sagittal Sway                     | Mean of the recorded y-direction values of the force center in a coordinate system. Unit: mm  | Larger value indicates poorer ability on sagittal sway  |
| Sway area                         | Area of the smallest polygon, which includes the total trajectory of the force center in the horizontal plate plane. Unit: $mm^2$   | Larger value indicates poorer ability in postural sway  |
| Sway velocity                     | Average travel speed of the force center in the horizontal sway plate plane calculated by dividing the total length of the force center trajectory in mm by the recording period length (in second) Unit: $mm*sec^{-1}$ | Larger value indicates poorer in postural sway.   |
| Sway intensity                    | Higher value recorded in any direction of the force center in a coordinate system. Unit: mm   | This measure was proposed as the most sensitive parameter <sup>224</sup><br>Larger value indicates poorer in postural sway      |

Adapted from Després *et al.* 2000

### Light touch threshold exploration

This evaluation of tactile perception thresholds was done by light- and deep-touch tests, known as Semmes-Weinstein filaments. During this test, nylon filaments of various diameters (from 1.65 to 6.65 mg) were successively applied to the skin on the palms of the hands and the feet of the subject <sup>225</sup>. This evaluation done on both sides allowed an exploration of ulnar, median and radial nerves and La5 area (great toe) (Figure 12). According to the manufacturer, in normal populations the threshold is 0.07 grams. A perception value under this threshold is qualified in our study as hyperesthesia, above this value the results are qualified as hypoesthesia and no sensation is qualified as anesthesia.

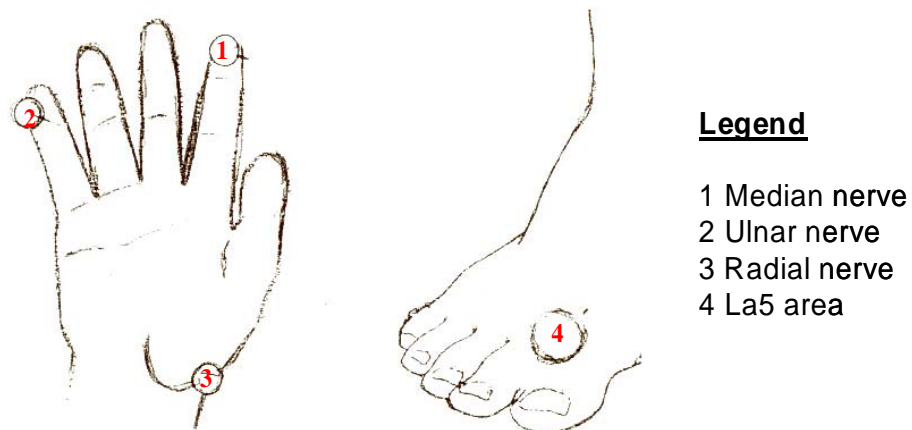


Figure 12: Hand and feet sites in Semmes–Weinstein monofilaments examination

## **Blood sample**

We determined gamma-glutamyltransferase, total mercury, and polyunsaturated fatty acids (PUFA) concentrations in blood of all participants. Fatty acids were analyzed by gas-liquid chromatography and total mercury was evaluated by cold vapor atomic absorption spectrometry.

## **Data analysis**

Summary data is expressed as means and standard deviations (SD) for continuous variables, or proportions for categorical variables. Values were compared by t-test, Fisher exact test or chi-square test, as appropriate.

At the time of onset, analyse of variance was used to examine the potential association between dependent continuous neurological variables (motor function or light-touch threshold) and factors recorded in the study. Multivariate analysis (covariance analysis) was performed to examine the relationship between neurological functions (continuous outcomes) and ciguatera exposure, after adjusting for potential confounders. The pre-selection criteria of a potential confounder was an association with dependant variables with a p value  $< 0.20$ <sup>198</sup>. Then, variables retained in this pre-selection were considered as confounders when their inclusion in the model modified the regression coefficient of exposure by more than 10 %. For dichotomous outcomes, logistic regression was used and potential confounding was also evaluated using same pre-selection criteria.

In order to evaluate the persistence of signs (continuous outcomes), we treated data as repeated-measure outcomes using the mixed model approach<sup>226</sup>. The covariance structures applied in our models were of the first order autoregressive (AR (1)) form and for all models retained convergence was achieved. In this analysis, we compared changes in continuous variables (mean function scores) from baseline to 2 month in exposed group and we also compared each exposed measures to unexposed. Multivariate analysis with potential confounders retained in univariate analyses were also done. For dichotomous outcomes, logistic regression with the generalized estimating equation method adjust for



within-subject correlation arising from repeated measures were used to compare changes in proportion from baseline to 2 month in exposed group. Multivariate analysis with potential confounders retained in univariate analyses were also done.

All statistical analyses were performed with a significance threshold of  $\alpha=5\%$ . Statistical treatments were performed using SAS software release 8.02 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## **Results**

At the time of the data treatment, only mercury levels and gamma-glutamyltransferase were available for all samples. We observed significant differences in mercury levels (nmol/l) between the two groups (exposed: mean = 118.0, SD = 62.0; unexposed: mean = 101.2; SD = 62.7;  $p=0.03$ ). However, no significant difference were observed in biomarker of alcohol consumption between the two groups (exposed: mean = 43.6, SD = 53.3; unexposed: mean = 40.5; SD = 39.1;  $p=0.2$ )

### **Acute symptoms and signs of ciguatera disease**

Table 13 presents anthropometric, demographic and lifestyle characteristics of the two groups retained in the analysis. Exposed and unexposed were similar except in sex proportion. Subsequent analysis was then performed with regards to this unbalanced representation.

The two groups differed significantly in some neurological tests (Table 14) and ciguatera patients always showed a higher proportion of positive signs compared to healthy subjects. In the exposed group, we observed positive signs in Romberg testing with open and closed eyes, vestibular signs such as rotatory vertigos, errors in hot/cold perception and a general impairment of the bone tendon reflex in each upper and lower limb. No ciguatera patient experienced cranial nerve paresis. Few ciguatera patients presented impairments in coordination ability and the difference compared to healthy participants was not significant. Moreover, at the onset, most prevalent symptoms were paresthesia (distal and proximal

part) (93%), dysesthesia (discomfort on the tongue and throat) (91%), myalgia and arthralgia (80%).

At the time of onset, patients demonstrated a higher light-touch threshold on hands than healthy participants. This was statistically significant for most of the nerves in both hands tested as presented in Table 15. Similar significant results were observed for La5 of the left foot but not for La5 of the right foot (Table 15). These results were obtained after adjustments for sex and age of the participants. No influence of alcohol consumption, smoking habits, regular physical activity, nor of previous intoxication of ciguatera disease was observed.

Manual coordination performances appeared similar between groups (Table 16) except for isolated tests such as reaction time, precision of finger tapping and precision of the pronation/supination test in the right hand. In these tests, patients gave poorer performances.

On sway evaluation, we observed significant differences between groups essentially in closed-eye conditions. As presented in Table 17, without visual input, exposed had poorer postural sway performance than the unexposed group. These results were obtained after controlling for co-variables significantly related to postural sway such as age, sex and regular physical activity. No other factors were significantly associated to postural sway. In open-eye conditions, intensity of sway was the only parameter for which a statistical difference was observed between the two groups. Exposed participants presented a higher value of intensity than unexposed. For the other values, even if they appeared to be higher in the group of participants exposed to the ciguatera this did not reach statistical significance.

Tableau 13: Description of demographic, lifestyle characteristics of exposed and unexposed participants at the time of onset (T0)

|                                      | Exposed<br>(n=47) | unexposed<br>(n=125) | P value            |
|--------------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| <b>gender (%)</b>                    |                   |                      | 0.025 <sup>a</sup> |
| Women                                | 55.3              | 36                   |                    |
| Men                                  | 44.7              | 64                   |                    |
| <b>Ethnic origin (%)</b>             |                   |                      | 0.139 <sup>c</sup> |
| European                             | 6.4               | 4.8                  |                    |
| Chinese                              | 4.3               | 12.8                 |                    |
| Polynesian                           | 80.8              | 64.0                 |                    |
| Mixed                                | 8.5               | 18.4                 |                    |
| Age (year) [mean (SD)]               | 46.3 (10.3)       | 46.3 (8.9)           | 0.994 <sup>b</sup> |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) [mean (SD)] | 28.0 (5.6)        | 27.6 (5.0)           | 0.682 <sup>b</sup> |
| <b>Tobacco (%)</b>                   |                   |                      | 0.473 <sup>a</sup> |
| Smokers                              | 40.4              | 33.3                 |                    |
| Non smoker                           | 59.6              | 66.7                 |                    |
| <b>Alcohol (%)</b>                   |                   |                      | 0.360 <sup>a</sup> |
| Consumers                            | 63.8              | 71.1                 |                    |
| Non consumers                        | 36.2              | 28.9                 |                    |
| <b>Regular practice of sport (%)</b> |                   |                      | 0.175 <sup>a</sup> |
| More than once a week                | 44.7              | 56.5                 |                    |
| Once a week or less                  | 55.3              | 43.5                 |                    |
| <b>Past event of ciguatera(%)</b>    |                   |                      | 1.000 <sup>a</sup> |
| One at least                         | 57.5              | 58.5                 |                    |
| None                                 | 42.5              | 41.5                 |                    |

a-Two-sided Fisher's Exact Test; b- P value obtained by analysis of variance; c- Pearson Chi-Square test

Tableau 14: Neurological evaluation exposed and unexposed participants at T0

| Test                           | % of presence  |                   | P value <sup>a</sup> |
|--------------------------------|----------------|-------------------|----------------------|
|                                | Exposed (n=47) | Unexposed (n=125) |                      |
| Romberg test eyes opened       | 14.9           | 0                 | <0.001               |
| Romberg test eyes closed       | 31.9           | 0.8               | <0.001               |
| Cochleo-vestibular nerve(VIII) | 10.9           | 1.60              | 0.01                 |
| Passivity-tonus                | 0              | 0                 | -                    |
| Finger-Nose-hear test          | 8.7            | 2.4               | 0.065                |
| Diadochokinesia                | 8.5            | 0.80              | 0.064                |
| Thermal sensation              | 30.2           | 6.61              | 0.001                |
| Light touch perception         | 6.4            | 1.60              | 0.09                 |
| Superficial pain               | 29.8           | 16.80             | 0.062                |
| Cranial nerve I                | 0              | 0                 | -                    |
| Cranial nerve IIa              | 0              | 0                 | -                    |
| Cranial nerve IIb              | 0              | 0                 | -                    |
| Cranial nerve IIb, III,IV,VI   | 0              | 2.40              | 0.295                |
| Trigeminal nerve V             | 4.3            | 0                 | 0.026                |
| Cranial nerve VII              | 0              | 0                 | -                    |
| Cranial nerve IX               | 2.1            | 0                 | 0.051                |
| Cranial nerve XI,XII           | 2.1            | 0                 | 0.051                |
| Muscular reflex                | 2.2            | 4.07              | 0.678                |
| Plantar reflex                 | 2.7            | 0.81              | 0.683                |
| Bone, tendon reflex right harm | 30.9           | 12.1              | <0.001               |
| Bone, tendon reflex left harm  | 31.9           | 16.9              | <0.01                |
| Bone, tendon reflex right leg  | 31.9           | 11.3              | <0.001               |
| Bone, tendon reflex left leg   | 29.8           | 8.06              | <0.001               |

<sup>a</sup> Cochran-Mantel-Haenszel Statistics adjusted for sex

Tableau 15:Light touch threshold exposed and unexposed participants at T0

|                   | Exposed (n=47) |                | Unexposed (n=125) |               | P value* |
|-------------------|----------------|----------------|-------------------|---------------|----------|
|                   | Means*         | 95 % CLM       | Means*            | 95 % CLM      |          |
| <b>Right hand</b> |                |                |                   |               |          |
| Ulnar nerve       | 3.12           | [2.99 - 3.25]  | 2.77              | [2.69 - 2.85] | <.0001   |
| Median nerve      | 3.39           | [3.27 - 3.53]  | 2.88              | [2.80 - 3.96] | <0.001   |
| Radial nerve      | 3.22           | [3.08 - 3.34]  | 2.81              | [2.73 - 2.88] | <0.001   |
| <b>Left hand</b>  |                |                |                   |               |          |
| Ulnar nerve       | 3.13           | [3..99 - 3.26] | 2.74              | [2.67 - 2.82] | <0.001   |
| Median nerve      | 3.31           | [3.18 - 3.43]  | 2.98              | [2.87 - 3.10] | <0.001   |
| Radial nerve      | 3.15           | [2.99 - 3.30]  | 2.89              | [2.61 - 2.96] | 0.054    |
| <b>Right feet</b> |                |                |                   |               |          |
| La5 area          | 3.89           | [2.94 - 4.85]  | 3.42              | [2.82 - 4.03] | 0.205    |
| <b>Left feet</b>  |                |                |                   |               |          |
| La5 area          | 4.11           | [3.22 - 5.00]  | 3.12              | [2.55 - 3.69] | 0.034    |

\*All mean and p value were adjusted for sex, age of participant

Tableau 16: Manual coordination exposed and unexposed participants at T0

| Tests  | Exposed<br>N=47 |          |           | Unexposed<br>N=125 |          |           | P value<br>Adjusted* |
|--|-----------------|----------|-----------|--------------------|----------|-----------|----------------------|
|  | Means           | 95 % CLM |           | Means              | 95 % CLM |           |                      |
| <i>Reaction time</i>                           |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| RH   | 0.37            | [0.33    | - 0.41 ]  | 0.33               | [0.30    | - 0.37 ]  | <0.01                |
| LH   | 0.34            | [0.30    | - 0.37 ]  | 0.32               | [0.30    | - 0.35 ]  | 0.129                |
| <i>Finger tapping measurements</i>             |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| <i>a</i>                                       |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| P. S.RH  | -0.01           | [-0.03   | - 0.00 ]  | -0.04              | [-0.06   | - -0.03 ] | 0.013                |
| sP. S.RH                                       | 0.06            | [0.05    | - 0.07 ]  | 0.06               | [0.05    | - -0.06 ] | 0.295                |
| P. S.LH  | -0.01           | [-0.03   | - -0.01 ] | -0.03              | [-0.04   | - -0.02 ] | 0.057                |
| sP. S.LH                                       | 0.05            | [0.04    | - 0.06 ]  | 0.05               | [0.04    | - 0.05 ]  | 0.392                |
| P. F.RH  | -0.06           | [-0.08   | - -0.04 ] | -0.06              | [-0.07   | - -0.05 ] | 0.422                |
| sP. F.RH                                       | 0.05            | [0.04    | - 0.05 ]  | 0.04               | [0.03    | - 0.05 ]  | 0.141                |
| P. F.LH  | -0.05           | [-0.06   | - -0.03 ] | -0.05              | [-0.06   | - -0.04 ] | 0.238                |
| sP. F.LH                                       | 0.04            | [0.03    | - 0.05 ]  | 0.04               | [0.04    | - 0.05 ]  | 0.298                |
| MF. RH   | 5.99            | [5.59    | - 6.39 ]  | 5.91               | [5.66    | - 6.16 ]  | 0.634                |
| MF. LH   | 5.89            | [5.47    | - 6.31 ]  | 5.73               | [5.47    | - 6.00 ]  | 0.729                |
| <i>Pronation &amp; Supination measurements</i> |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| <i>b</i>                                       |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| P. S.RH  | -0.40           | [-0.06   | - -0.02 ] | -0.07              | [-0.08   | - -0.05 ] | 0.016                |
| sP. S.RH                                       | 0.07            | [0.06    | - 0.08 ]  | 0.08               | [0.07    | - 0.08 ]  | 0.903                |
| P. S.LH  | -0.05           | [-0.07   | - 0.03 ]  | -0.06              | [-0.08   | - 0.03 ]  | 0.061                |
| sP. S.LH                                       | 0.07            | [0.06    | - 0.07 ]  | 0.06               | [0.06    | - 0.07 ]  | 0.157                |
| P. F.RH  | -0.06           | [-0.08   | - -0.04 ] | -0.07              | [-0.08   | - -0.06 ] | 0.232                |
| sP. F.RH                                       | 0.08            | [0.06    | - 0.09 ]  | 0.07               | [0.06    | - 0.08 ]  | 0.194                |
| P. F.LH  | -0.05           | [-0.07   | - -0.03 ] | -0.07              | [-0.08   | - -0.06 ] | 0.039                |
| sP. F.LH                                       | 0.07            | [0.06    | - 0.08 ]  | 0.07               | [0.06    | - 0.08 ]  | 0.292                |
| MF. RH   | 5.01            | [4.59    | - 5.43 ]  | 5.20               | [4.92    | - 5.48 ]  | 0.239                |
| MF. LH   | 4.66            | [4.29    | - 5.04 ]  | 5.20               | [0.92    | - 5.42 ]  | 0.012                |
| <i>Tremor test</i>                             |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| <i>c</i>                                       |                 |          |           |                    |          |           |                      |
| TI for RH                                      | 0.13            | [0.11    | - 0.15 ]  | 0.12               | [0.12    | - 0.13 ]  | 0.094                |
| TI for LH                                      | 0.14            | [0.11    | - 0.17 ]  | 0.13               | [0.11    | - 0.15 ]  | 0.281                |
| F50 for RH                                     | 5.75            | [5.24    | - 5.61 ]  | 5.88               | [6.26    | - 6.16 ]  | 0.321                |
| F50 for LH                                     | 6.24            | [5.70    | - 6.77 ]  | 5.88               | [5.60    | - 6.17 ]  | 0.879                |
| SF50 for RH                                    | 2.63            | [2.37    | - 2.88 ]  | 2.99               | [2.85    | - 3.13 ]  | <0.01                |
| SF50 for LH                                    | 3.13            | [2.85    | - 3.40 ]  | 3.16               | [3.02    | - 3.31 ]  | 0.405                |
| HI for RH                                      | 2.76            | [2.60    | - 2.92 ]  | 2.63               | [2.54    | - 2.72 ]  | 0.075                |
| HI for LH                                      | 2.57            | [2.40    | - 2.74 ]  | 2.54               | [2.45    | - 2.64 ]  | 0.402                |
| T Index for RH                                 | 1.56            | [1.31    | - 1.81 ]  | 1.49               | [1.35    | - 1.62 ]  | 0.295                |
| T Index for LH                                 | 1.35            | [1.18    | - 1.52 ]  | 1.22               | [1.13    | - 1.31 ]  | 0.078                |

a: p value adjusted for sex and dominating hand, b: adjusted for sex and age, c: adjusted for sex, age and alcohol consumption, d: adjusted for sex and alcohol consumption

P.=precision; sP. : rhythmic regularity; S.: Slow cadence; F.: Fast Cadence; RH: right hand; LH: Left hand. MF: maximum frequency; TI:Tremor intensity; F50: Frequency center; SF50: Frequency dispersion; HI: Harmonic index; T Index: Tremor index.

Tableau 17: Sway evaluation exposed and unexposed participants at the time of onset

| Test               | Exposed (n=47) |                   | Unexposed (n=125) |                   | P value Adjusted* |
|--------------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                    | Means          | 95 % CLM          | Means             | 95 % CLM          |                   |
| <b>Eyes opened</b> |                |                   |                   |                   |                   |
| Means sway         | 6.08           | [ 5.59 - 6.56 ]   | 6.01              | [ 5.71 - 6.31 ]   | 0.407             |
| Transversal        | 3.37           | [ 3.08 - 3.66 ]   | 3.32              | [ 3.14 - 3.50 ]   | 0.383             |
| Sagital            | 4.32           | [ 3.91 - 4.73 ]   | 4.30              | [ 4.05 - 4.60 ]   | 0.472             |
| Area               | 384.86         | [313.66 - 456.06] | 376.48            | [332.35 - 420.61] | 0.422             |
| Velocity           | 12.00          | [ 11.15 - 12.86 ] | 11.39             | [ 10.86 - 12.92 ] | 0.116             |
| Sway intensity     | 5.75           | [ 5.27 - 6.21 ]   | 5.16              | [ 4.87 - 5.46 ]   | 0.003             |
| <b>Eyes closed</b> |                |                   |                   |                   |                   |
| Means sway         | 8.11           | [ 7.48 - 8.75 ]   | 7.15              | [ 6.75 - 7.54 ]   | 0.006             |
| Transversal        | 4.67           | [ 4.25 - 5.10 ]   | 4.14              | [ 3.88 - 4.40 ]   | 0.018             |
| Sagital            | 5.60           | [ 5.13 - 6.06 ]   | 4.95              | [ 4.65 - 5.23 ]   | 0.011             |
| Area               | 781.9          | [657.75 - 906.06] | 615.122           | [538.16 - 692.08] | 0.013             |
| Velocity           | 19.05          | [ 17.32 - 21.18 ] | 17.85             | [ 16.66 - 19.05 ] | 0.115             |
| Sway intensity     | 7.36           | [ 6.80 - 7.93 ]   | 6.67              | [ 6.32 - 7.02 ]   | 0.022             |

\*All mean and p value were adjusted for sex, age and regular physical activities

### Follow-up of symptoms and signs of ciguatera disease

At the time of recruitment, all patients agreed to participate in all interviews. However, among patients included in the study, only 72 % of patients completed the second session and 60 % of patients met the research team for the third session. According to the severity scale of the disease obtained at the time of onset, patients who completed all sessions were similar to others ( $p=0.71$ ). These groups were also similar in age ( $p=0.68$ ), gender ( $p=0.14$ ), BMI ( $p=0.41$ ), smoking ( $p=0.76$ ), regular physical activity ( $p=0.56$ ) and past occurrence of ciguatera ( $p=1.00$ ). The only difference observed was for alcohol consumption ( $p=0.02$ ). The proportion of patients who reported consuming alcohol was smaller in patients who completed all sessions.

### Neurological examination

For several neurological tests for which we had observed an impairment at time of onset, we also observed a recovery of the neurological function two months later as presented in Figure 13. This was significant for the Romberg test in closed-eye conditions ( $p<0.01$ ) and seen as a trend in open-eye conditions ( $p=0.10$ ), the exploration of vestibular nerve ( $p=0.07$ ), and bone tendon reflex in each of the upper and lower limbs (Bone, tendon reflex

right harm-right  $p=0.13$ ; left harm-right  $p=0.11$ ; right leg  $p=0.14$ ; left leg:  $p=0.15$ ). However, we observed no modification in hot/cold perception ( $p=0.25$ ).

### **Light touch threshold**

Adjusting for three time periods, sex and age, we observed that some parameters of the light-touch threshold evaluation remained significantly higher among exposed participant at 60 days after the onset of the disease compared to controls (Figure 14). This was observed for the ulnar right nerve ( $p=0.04$ ), radial right nerve ( $p<0.001$ ), radial left nerve ( $p<0.001$ ) and median left nerve ( $p=0.01$ ). For median right nerve ( $p=0.14$ ) and ulnar left nerve ( $p=0.09$ ) higher light-touch thresholds were only seen as trends that did not reach statistical significance. In feet light-touch, as observed in the acute time of onset, exposed patients at the end of the follow-up did not present higher light-touch thresholds compared to unexposed participants (L5a right ( $p= 0.84$ ), L5a left ( $p=0.43$ )).

### **Hand coordination**

For the time reaction test on both hands, there were no significant differences between patients tested at the end of the study and the unexposed group (RH:  $p=0.106$ ; LH:  $p=0.177$ ). However, we detected a significant difference in performance according to testing period within the patient group (RH  $p<0.001$ ; LH  $p<0.05$ ). Indeed, patients at the third session reacted more quickly than at the first (RH :  $p<0.001$ ; LH :  $p<0.01$ ).

On pronation/supination tasks, we observed several differences in the performance of cases (onset *vs* 2 months later). Results showed that cases at the third session had better performances in precision and regularity compared to their performance at the onset. This was significantly observed for both hands in slow and fast cadence [RH: Slow precision  $p=0.02$ ; regularity  $p=0.02$ ; Fast precision  $p<0.01$ ; regularity  $p<0.001$ ; LH: Slow precision  $p=0.01$ ; regularity  $p=0.03$ ; Fast precision  $p=0.33$ ; regularity  $p=0.08$ ]. However, no time effect was observed for maximum frequencies for both hands (RH:  $p=0.41$ ;LH:  $p=0.42$ ). According to exposure, we also observed that patients at the end of the follow-up performed better in several tests than the unexposed group did. This was observed for right hand regularity in slow cadence ( $p<0.001$ ), in precision ( $p<0.01$ ) and regularity in fast

cadence ( $p < 0.01$ ). For the left hand, results were not as clear and only observed as trends (Slow cadence precision:  $p = 0.04$ ; regularity:  $p < 0.1$ ; Fast cadence precision:  $p < 0.1$ ; regularity:  $p < 0.1$ ).

### Postural sway

On postural sway in open-eye and closed-eye conditions, all parameters measured in exposed participants were not significantly different from unexposed (Figure 15). These results were obtained for three time periods of testing, sex and age.

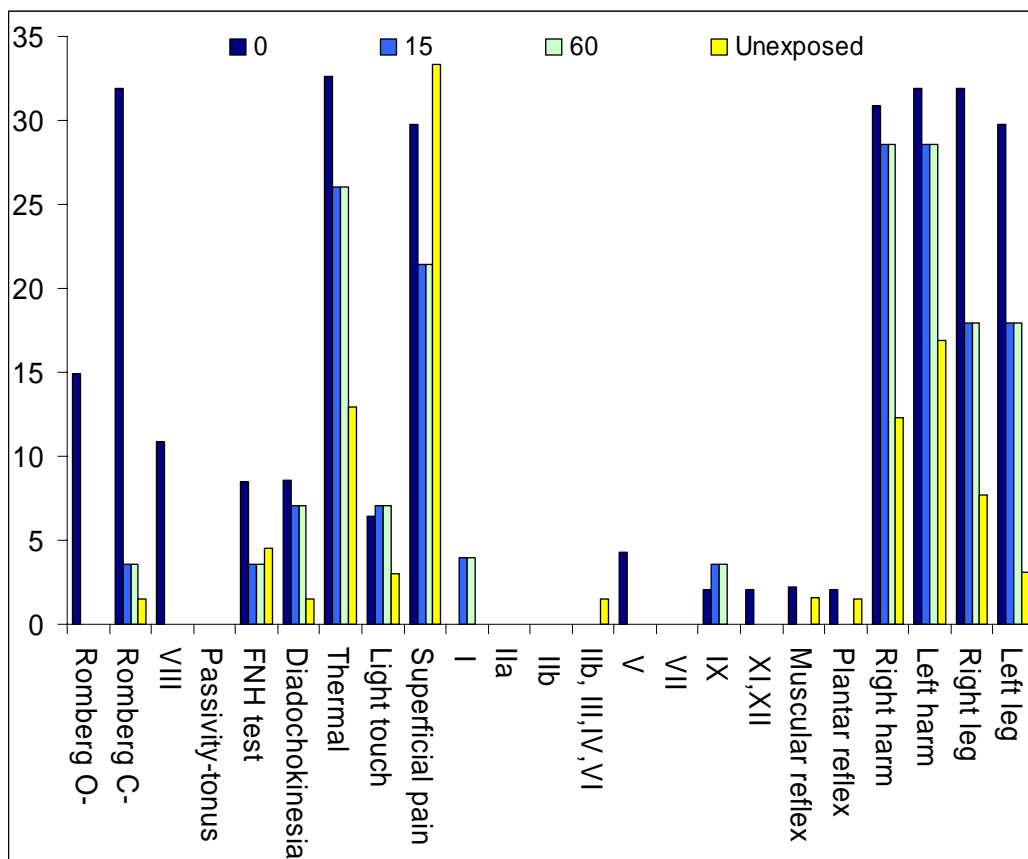


Figure 13: Comparison of neurological examinations between unexposed and exposed participants \*:  $p < 0.05$ ; I-XII: Cranial nerves; §: Bone, tendon reflex. Yellow bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars: 2 months after the onset



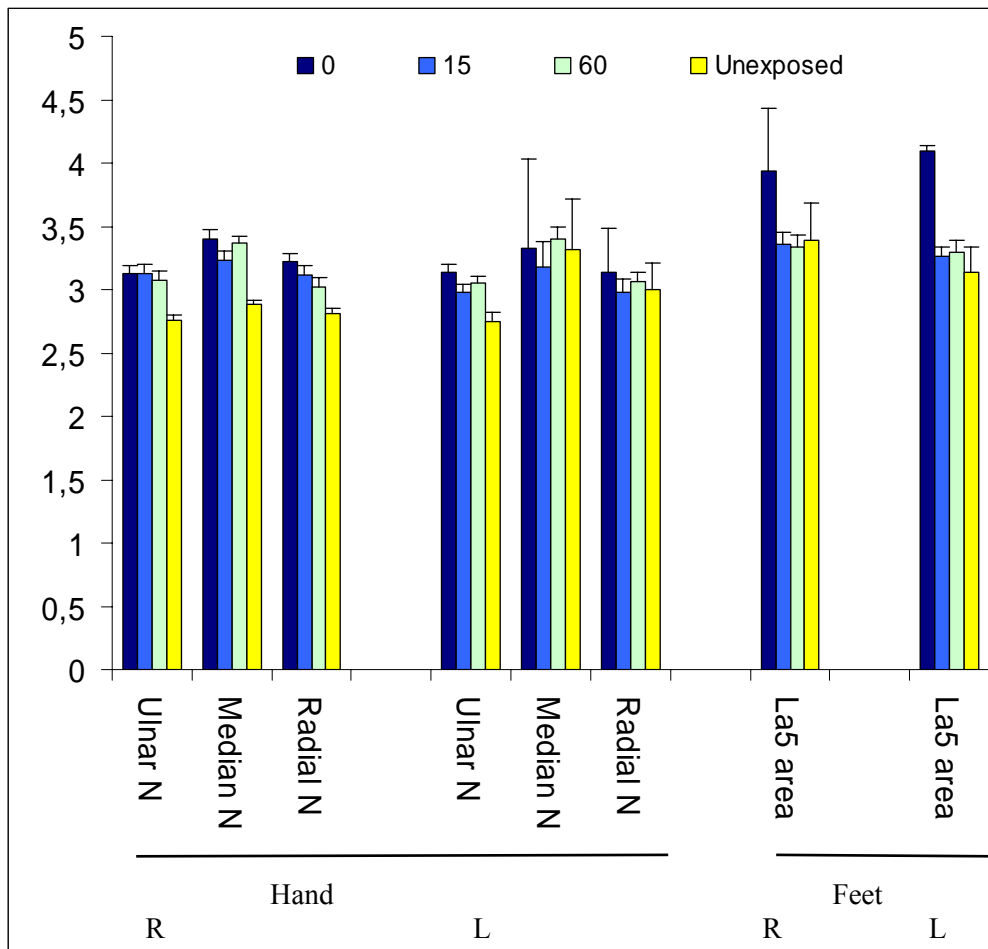
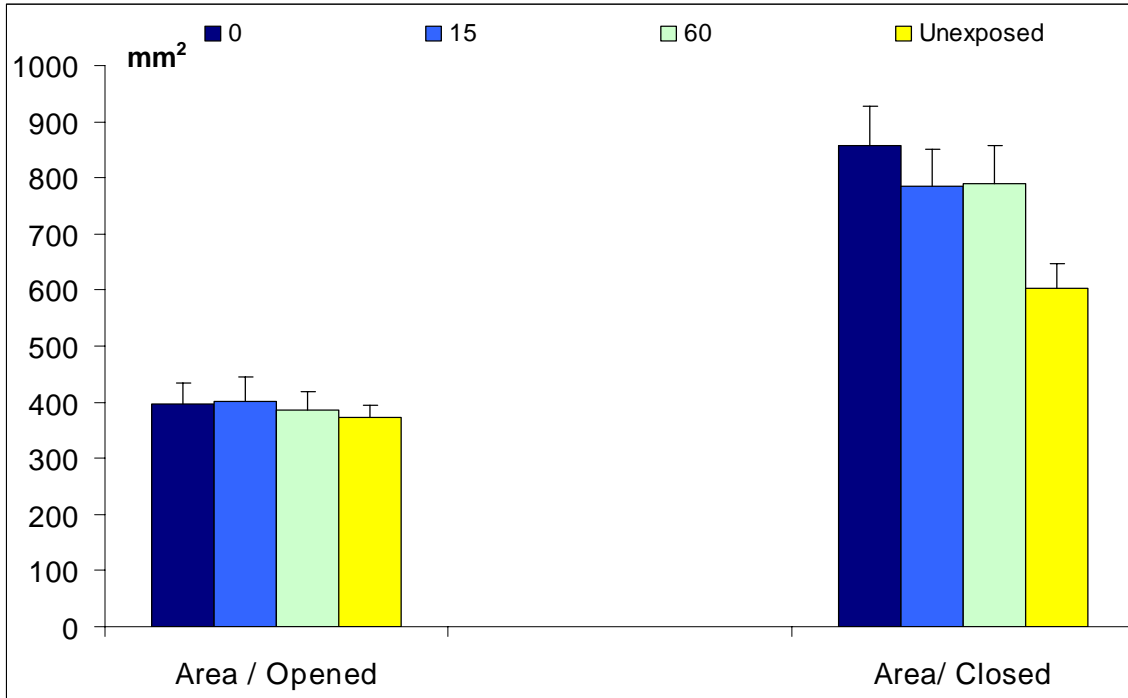
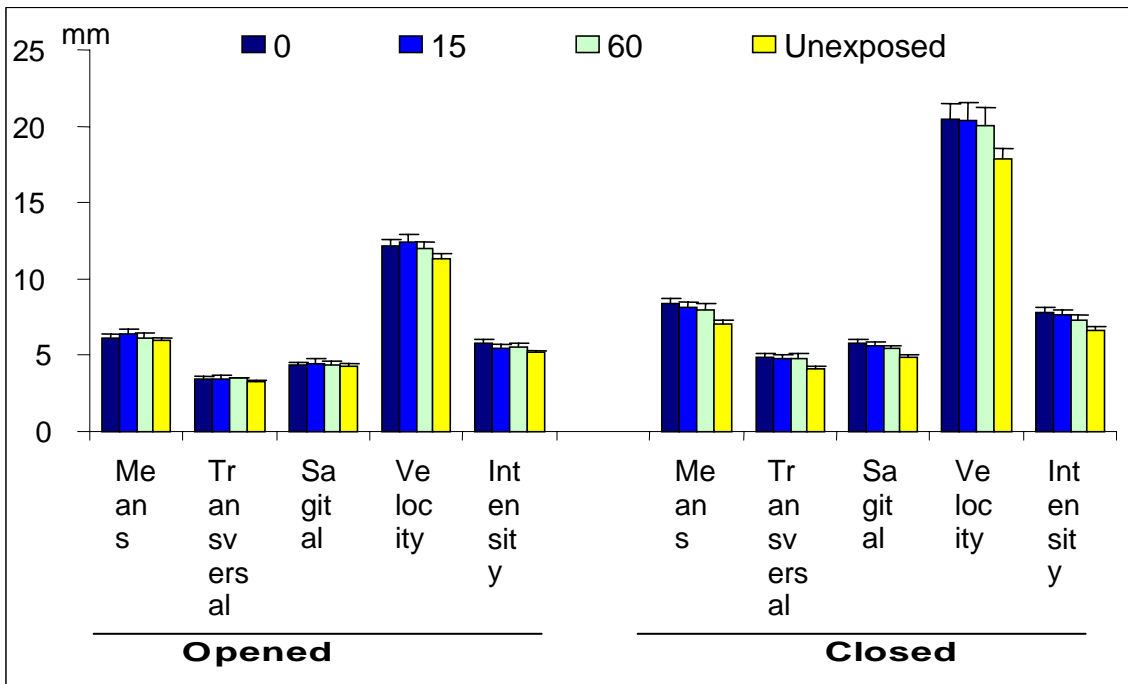


Figure 14: Comparison of light-touch threshold between unexposed and exposed participants, \*:  $p < 0.001$ ; Yellow bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars: 2 months after the onset



a



b

Figure 15: Comparison of sway performances between unexposed and exposed. a: sway area in mm<sup>2</sup>; b: other parameters tested by sway plate; c: mm\*s-1; \*: p<0.05. All means and p values were adjusted for sex, age and regular physical activity. Yellow bars: unexposed; dark bars: exposed at the onset; blue bars: 15 days after; white bars: 2 months after the onset

## Discussion

Ciguatera disease is known as a seafood poisoning combining multiple symptoms with a gastrointestinal and neurologic predominance. Whereas gastrointestinal symptoms are clearly characterized in their magnitude and time duration, description of neurological symptoms is less precise, at least in mild poisoning cases. One objective of this case-control study was to describe neurological abnormalities found in victims of ciguatera disease using a standard neurological examination added to light-touch threshold evaluation and motor function examinations using computerized testing.

All patients recruited in this study experienced symptoms known as markers of ciguatera disease and reported the appearance of symptoms at most 12 hours after the consumption of good tasting reef-fish. More than 93% of patients reported painful paresthesia in distal and proximal parts and 91% of patients reported dyesthesia with profound discomfort on the tongue and in the throat when ingesting food and cold drinks. Myalgia and arthralgia were experienced by approximately 80% of patients interviewed at the onset of the disease. In neurological exams performed at the time of onset, we found several objective positive neurological signs in proportions significantly different from that of the control group that comprised ciguatera-free patients. Clinical findings reveal static and dynamic ataxia, general impairment of the bone tendon reflex (markedly depressed or abolished) in each of the upper and lower limbs, diminishing sensation to light touch, errors in hot/cold perception. Superficial pain also seemed to be present in patients, but the proportion was not statistically higher than in the healthy people. The light-touch threshold evaluation showed a significant impairment of tactile perception on the palms of hands compared to healthy participants, but not on feet. In hand coordination, despite a marginal difference between patients and healthy participants, the overall tests did not show a significant alteration of performances according to exposure to the disease. However, we observed a significant increase in body sway in patients compared to healthy participants mainly apparent when visual input was eliminated.

These clinical signs such as paresthesia, cold allodynia, loss of tactile sensation in glove type distribution, alteration of gait and postural sway may indicate the presence of

impairment of the lemniscal sensitivity observed in sensory neuropathy. Our results are in accordance with recent studies that suggest that polyneuropathy of ciguatera poisoning is a mixed sensory neuropathy <sup>105</sup>. Moreover, peripheral neuropathy has previously been observed in numerous isolated case reports in which patients suffered from severe poisoning <sup>212,64,213,155</sup>. The specific action of ciguatoxins on voltage-dependant sodium and calcium channels <sup>73,68,65,66,70,72</sup>, inducing slowing sensory and motor nerve conduction velocities, and a diminishing amplitude of sensitive and motor-evoked potential, allowed us to link ciguatera disease with the axonal channelopathies as exposed by Gutmann in 1996 <sup>227</sup>. Electrophysiological evaluations realized on both humans severely intoxicated and animals, suggested a sensitiveness of myelinated and unmyelinated fibers to the deleterious actions of CTX(16, 51-53). In addition, Australian researchers have linked trouble in cold perception to intense nerve depolarization in peripheral small-A and C-polymodal nociceptor <sup>62</sup>. These fibres are known to transfer tactile, thermal sensitive information, and are also involved in itching sensation. Impairment of sensitivity observed in our patients was reinforced by a large proportion of our patients who reported itching, leading us to think of a dysfunction of small-fibre as observed recently in Cook Island <sup>105</sup>. However, inconsistency among human neurophysiological evaluations and differences in clinical observations suggest that the existence of a gradient in polyneuropathy induced by ciguatera disease probably in relation to the quantity of circulating CTX and/or to the involvement of other toxins <sup>64,213</sup>. This could explain differences observed between our patients.

After the onset, neurological examinations were normal, no differences were observed between patients and the healthy participants group, even if 30% of patients still expressed subjective complaints such as overall weakness 2 months after the onset. Moreover, sway performances of patients reached values of the healthy group, therefore, we may conclude that normal sway was restored. Interestingly, in measurements performed during the follow-up, we observed significant differences in hand coordination between the two groups while no differences were observed at time of recruitment. Indeed, for several tests, we observed a statistical improvement of performance in patients at the end of the study compared to the control group. This was seen in Reaction Time and Pronation/Supination

tasks. These improvements highlight a probable learning effect in these manual tasks. Thus, these results suggest that future studies that involve the same manual ability testing, must take this potential bias into account. Given the nature of neurological functions evaluated in other tests such as sway ability and light-touch, we do not think that measures were affected by this learning bias. Overall, among the functions evaluated in the follow-up, only light-touch threshold was still impaired two months after the onset. Indeed compared to ciguatera-free people, some threshold values measured in patients were still high, essentially at the palm of the hands level. These results concur with progressive regression of neurological signs previously observed<sup>64,213,15</sup>.

In this study we observed no effect of ciguatera disease on hand coordination. However it is possible that our measure of rapid alternating movement may not be sufficiently precise to characterize subtle alterations in diadochokinesia as proposed by Desprès and colleagues in 2000<sup>222</sup>. Thus, in order to verify if manual ability is undeniably impaired, other tests such as diadochokinesiometer should be used<sup>165</sup>. In their article published in 2000<sup>222</sup>, Desprès and colleagues discussed intra-individual variability in testing which was also used in our study. This variability may have weakened associations observed in this study. A similar conclusion may be applied to our results on the evaluation of tactile threshold. At the neurological examination, variability was also observed even if standardized neurological evaluation was used by our two neurologists. In this case, as proposed by Shinar et al. in 1985<sup>228</sup>, neurologist variability may have reduced the strength of the relationship observed. Indeed, possible errors in neurological assessment could have led to an underestimation of the magnitude of the true exposure relationship.

Moreover in terms of neurotoxicity, it is well recognized that fish consumption by humans is the principal source of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and methylmercury, which have neuroprotective and neurotoxic actions, respectively<sup>218,219,229</sup>. Preliminary results on blood reveal the necessity to take into account the effects of these two substances as potential confounders. In this study, total mercury and Polyunsaturated fatty acids (PUFA) concentrations were analyzed in the blood of participants. At the time of analysis not all data were available, therefore these results need to be adjusted for these important

confounders. However, despite the preliminary status of results presented here, several new aspects of ciguatera disease were discernible. Amongst our patient who may be described as mildly intoxicated, we observed clinical signs consistent with mild sensory neuropathy that predominantly affects the lemniscal system. These signs which apparently resolved progressively had not totally disappeared two months after the onset of the disease.

### **Acknowledgments**

We thank participants for their co-operation. We also thank the Center for Diseases Control and Surveillance for financial support of the study. We are grateful to Mrs Susan Gingras for her expert advice on statistical analysis.

## **CHAPITRE 6: Discussion générale**

L'objectif général de cette thèse de doctorat était de dresser un portrait fidèle de l'épidémiologie de la ciguatera en Polynésie Française, en vue d'apporter des éléments complémentaires utiles à l'amélioration de la prise en charge et la prévention de cette intoxication. Ce travail s'est donc articulé autour de deux axes principaux. Le premier décrit cet ichtyosarcotoxisme selon sa dynamique environnementale et temporelle. Le second en détaille, à l'échelle individuelle, les caractéristiques cliniques encore imprécises.

En 2000, Derouiche concluait son analyse d'une intoxication sévère à la ciguatera en écrivant: « le meilleur traitement reste la prévention... »<sup>213</sup>. En effet, lorsque l'on s'attarde à la question de la ciguatera, dans le pacifique ou ailleurs, l'absence de traitement efficace impose la présence de moyens de prévention efficaces de cette maladie. L'avenue de recherche privilégiée dans ce domaine depuis les années 80 fut la création d'outils de détection rapides, valides des ciguatoxines dans les poissons avant leur consommation<sup>134-137</sup>. Néanmoins malgré d'importants efforts, cette recherche reste encore à l'heure d'aujourd'hui, infructueuse. Dans ce contexte, nous avons alors choisi d'émettre l'hypothèse d'une prédiction des poussées épidémiques de la ciguatera par une surveillance environnementale reposant sur les relations entre les micro-algue toxiques impliquées et un transfert des toxines dans la chaîne alimentaire pisciaire. L'analyse rétrospective de 8 années de cueillette de données écologiques et sanitaires aboutit à la création d'un outil prédictif de l'apparition de la ciguatera dans la population en fonction de la densité de l'algue toxique dans le milieu. Cet outil, dont les limites sont discutées dans le chapitre 2, démontre, néanmoins, une bonne habileté prédictive. Cette caractéristique lui offre un potentiel d'application relativement rapide dans le contexte polynésien où la floraison de l'algue toxique fait l'objet, dans certaines zones, d'une surveillance hebdomadaire. En fait, en l'absence de moyens de détection rapides des ciguatoxines dans le poisson, ce modèle apparaît pour les zones endémiques de la ciguatera, telle la Polynésie Française, comme l'avenue la plus prometteuse permettant de la réduction de l'incidence de cette intoxication par des programmes de prévention adaptés.

Cette question de l'incidence de la ciguatera et celle des toxines marines en général fait partie du large débat des effets des changements climatiques sur la santé. Dans ce cadre



plusieurs auteurs<sup>16,230,147,148,231,150,232</sup> ont suggéré la recrudescence des intoxications induites par des toxines d'origine marine. Or, étant donné les multiples retentissements de la ciguatera en Polynésie Française, nous avons évalué la tendance temporelle de cette intoxication dans le cadre d'une étude rétrospective. Il ressort de nos analyses qu'à l'échelle du territoire, l'incidence de la ciguatera diminue légèrement durant la période d'étude. Par contre, la même analyse effectuée pour chacune des archipels démontre des tendances opposées et des taux d'incidence très différents. Tel que discuté dans le chapitre 3, un glissement progressif des habitudes de vie traditionnelles vers un mode de vie moderne observé dans l'archipel de la Société est probablement à l'origine des différences mises en évidence. Cette dernière observation prend toute son importance dans le cadre de la mise en place de prévention de la ciguatera en Polynésie Française. Ainsi, il conviendra d'adapter les outils de prévention à chaque archipel. Bien que l'influence de l'évolution d'un mode de vie traditionnel vers un mode de vie et une alimentation plus « industrialisée » soit une hypothèse plausible, la qualité du recueil des données présentées dans le chapitre trois nuit également à la précision intégrale de cette deuxième étude. En effet, tel que discuté dans le chapitre 3, le gradient d'incidence en fonction de l'éloignement peut être relié à l'offre de soins privés très importante dans l'archipel de la société et presque inexistante dans les autres archipels éloignés. Or, étant donné que les médecins du secteur privé ne participaient pas à la déclaration des cas de ciguatera faite à la direction de la santé, il est possible que le biais différentiel alors introduit, soit à l'origine des taux d'incidence plus faibles. Toutefois, tel que précisé dans le chapitre 3, une étude réalisée en Polynésie Française de 1960 à 1984 a obtenu des taux semblables, se distribuant également selon un gradient très similaire à ceux trouvés par nos analyses. Les données présentées par Bagnis *et al.* en 1985 proviennent d'un programme de recherche débuté en 1960 se basant sur des fiches épidémiologiques normalisées distribuées aux médecins de l'ensemble du territoire par l'Institut Louis Malardé. Bien qu'à notre connaissance aucune évaluation du programme n'ait été faite, ce programme jouissait d'une bonne participation du personnel de santé de Polynésie Française jusqu'au début des années 1990 (Bagnis, communication personnelle, avril 2001). Par ailleurs, comme toutes les études précédentes, il est probable que les taux d'incidence évalués dans cette étude souffrent d'une sous-évaluation due aux patients eux-mêmes. Il est probable que ce biais soit d'importance similaire dans les archipels éloignés

et probablement plus faible dans l'archipel de la Société en raison de l'accès facilité aux soins. En ce qui concerne la variation de ce biais en fonction de temps, il est possible que l'importance de ce biais ait diminué bien que la médecine n'ait pas encore d'antidotes disponibles. Toutefois, seule une étude anthropologique portant sur l'importance de la médecine traditionnelle dans cette région permettrait d'infirmier ou de confirmer l'importance de ce facteur.

À la lumière du précédent argumentaire, il s'avère que les limites de l'étude, sujet du troisième chapitre de cette thèse, imposent une certaine prudence quant à l'interprétation des résultats. Cependant, il est important de souligner que les études similaires parues à ce jour, se sont heurtées aux mêmes limites additionnées pour certaines d'entre elles de biais de classification <sup>34</sup>.

Nonobstant, les conclusions de cette étude, la question de l'augmentation des intoxications humaines d'origine marine reste encore en suspens. La revue des écrits scientifiques médicaux et écologiques démontrent effectivement une recrudescence de cas d'intoxication humaine et d'efflorescences d'algues <sup>147-149,76,233,150,151</sup>. Il convient cependant de garder un point de vue critique quant à cette apparente progression. Dès le début des années 80, des auteurs déploraient une sous-estimation des intoxications d'origine marine due aux patients eux-mêmes, à l'absence de système de déclaration obligatoire et à la méconnaissance des médecins <sup>30,159,157,234</sup>. Or, il serait important de déterminer si la recrudescence suggérée depuis, est liée à la sensibilisation accrue des médecins à ce type de maladie. De même, au niveau écologique, l'augmentation des rapports d'efflorescence observée ces dernières années peut refléter un accroissement réel ou simplement être représentative d'une meilleure détection de ces événements comme le soulignent très justement Morris (1999)<sup>76</sup> et Van Dolha (2000)<sup>151</sup>. La mise en place de systèmes de surveillance environnementale et sanitaire permettra sans doute d'apporter une réponse moins équivoque quant à l'influence des changements climatiques et/ou environnementaux sur les empoisonnements humains d'origine marine.

La seconde partie des analyses réalisées dans le chapitre 3 permet d'aborder le portrait clinique de la ciguatera que nous nous proposons d'affiner dans la deuxième section de ce

projet de doctorat. En effet, entre 1992 et 2001, des informations cliniques ont été colligées chez 23 % des cas recensés sur l'ensemble du territoire pendant cette période. Les résultats obtenus quant à la fréquence et la nature des symptômes ressentis par les patients étaient en accord avec les descriptions antérieures de cette maladie<sup>54,158,174,15</sup>. Par ailleurs, cette étude a suggéré l'importance de facteurs individuels tels l'âge et le sexe dans la sévérité de la maladie. Ces résultats en accord avec la majorité des études réalisées dans le domaine nécessitent, néanmoins, d'être précisés dans le cadre d'études prospectives. Car, tel que discuté dans le chapitre 3, certains résultats obtenus s'opposent à ceux d'études précédentes<sup>158,83</sup>. Tel l'espèce de poisson (carnivore vs. herbivore) ou les épisodes antérieurs de ciguatera ont été proposés comme facteur aggravant des intoxications suivantes<sup>54,158,38</sup>. Cette dernière association particulièrement intéressante n'a cependant pas pu être vérifiée dans notre analyse en raison du nombre important de valeurs manquantes de cette variable.

Les études présentées dans les chapitres subséquents (chapitre 4 et 5) se proposaient de préciser la symptomatologie clinique de cette affection. Ces précisions paraissent essentielles vu l'absence d'outils de détection biologique dans le diagnostic de la ciguatera. Par ailleurs, la littérature médicale relative à cette intoxication fait souvent état de réapparition ou de persistance de symptômes chez les patients<sup>42,30,159,162,155,78,92,15,91,97</sup>. Or, dans la prise en charge de cette maladie, il convient de déterminer si ces manifestations symptomatologiques sont fréquentes ou isolées, puis de les caractériser avec précision chez un grand nombre de patients atteints de ciguatera.

L'étude de cohorte présentée dans le chapitre 4 avait pour objectif de déterminer la prévalence des symptômes ressentis en phase aiguë de la maladie chez 183 patients de Polynésie Française. Puis, dans un deuxième temps cette étude se proposait d'évaluer la persistance de ces symptômes dans le temps. Les résultats obtenus montrent que la symptomatologie de cette maladie, bien que multiple, est à prédominance neurologique et peut atteindre divers paliers de sévérité en aval des manifestations invalidantes sujettes des rapports de cas proposés dans la littérature. Parmi les rares études épidémiologique qui se sont attardées à cette maladie, certaines ont élaborées des critères de sévérité fondés sur la somme des symptômes ressentis par le patients<sup>158</sup>, la présence de troubles cardiaques<sup>83</sup> ou

le nombre de symptômes pondérés selon l'intensité de chaque symptôme<sup>159</sup>. L'indice de sévérité construit dans cette étude est inspiré des précédents indices et se fonde sur le type de symptômes ressentis (neurologique, cardiaque, gastro-intestinal et systémique) et le nombre de systèmes affectés. À l'instar des précédentes études, nous avons tenté de mettre en évidence les divers facteurs permettant d'expliquer la variabilité symptomatique observée en phase aiguë. Tel que présenté dans le chapitre 4, seuls les facteurs relatifs à l'exposition tels le type, les parties et la quantité de poisson ingérée semblent avoir une influence sur le degré de sévérité de la maladie. Ces résultats qui jouissent d'une forte plausibilité biologique viennent réaffirmer les résultats des études antérieures<sup>235,158,121</sup>. Toutefois, cette étude n'a révélé aucune influence significative des facteurs anthropométriques ou relatifs aux habitudes de vie des patients sur la sévérité de la maladie éprouvée en phase aiguë. En effet, contrairement aux observations effectuées par certains auteurs<sup>54,36,210,158</sup>, l'analyse effectuée chez les patients polynésiens ne permet pas de confirmer que la sévérité augmente chez les patients ayant déjà eu la ciguatera par le passé. L'hypothèse alors avancée proposait l'existence d'une sensibilisation aux ciguatoxines qui augmente au fur et à mesure des intoxications. Bien que nos résultats ne corroborent pas cette hypothèse, il serait fort intéressant de vérifier l'influence des intoxications antérieures par rapport aux primo-intoxications en y ajoutant la notion de délais séparant l'intoxication étudiée de l'épisode précédent. D'autre part, dans les descriptions antérieures de cette intoxication, les auteurs proposaient également une différence de sévérité en fonction de l'âge. Or, cette association n'a pas été mise en évidence dans notre étude. Notons que les études antérieures considéraient des populations de tous âges et notre étude s'adressait uniquement à une population adulte. Il est probable que l'homogénéité de notre population en regard à cette variable soit à l'origine des résultats que nous avons obtenus.

Plusieurs mois après l'épisode aigu, des manifestations cliniques de la ciguatera ont été identifiées chez cette population de patients. Cette dernière observation peut être vue comme l'une des contributions les plus originales de ce projet de doctorat. Jusqu'à présent, ces manifestations ont été rapportées uniquement chez des cas isolés suite à des intoxications requérant un suivi médical étroit. Ces manifestations pouvaient alors être perçues comme l'expression marginale d'une ciguatera sévère. D'après nos résultats, il

appert que la disparition des symptômes est progressive et qu'après une période de 2 mois, près de 60 % des patients interrogés se plaignent encore de symptômes. L'un des ambitieux objectifs de cette étude était de connaître la prévalence des effets neurologiques chroniques de la ciguatera 6 mois après le début de l'intoxication. Seuls 17 % des patients recrutés se sont présentés à cette quatrième entrevue. Les raisons de ce faible taux de participation est probablement attribuable à la nature des symptômes et à la disponibilité du patient. Cependant, tel que discuté dans le chapitre 4, la perte au suivi n'est pas synonyme d'absence de symptômes mais plutôt relié à la perception de la gravité des symptômes. En effet, d'après les résultats des 23 patients qui ont suivi l'ensemble de l'étude, les principaux symptômes recensés étaient des démangeaisons, de la fatigue et des maux de tête. Ces symptômes ont pu être perçus comme anodins et donc ne nécessitant pas une nouvelle visite chez le médecin pour le suivi. Aussi d'après ces résultats nous pensons que la ciguatera est une affection qui perdure au-delà de 2 mois.

Dans la littérature nombre de facteurs sont proposés comme étant reliés à la réapparition ou à la persistance de symptômes<sup>54,36,210,158</sup>. Dans cette étude, seuls l'indice de sévérité observé en phase aiguë et la consommation de tabac semblent influencer la disparition des symptômes au cours du temps. Tel que discuté dans le chapitre 4, l'absence d'influence des facteurs proposés dans les études antérieures, notamment la consommation de protéines et la consommation d'alcool sont à interpréter avec précaution puisque ces résultats peuvent être fortement biaisés par l'observance d'un régime proposé par les médecins de cette région. Aux vues de ces derniers résultats, il apparaît alors opportun d'explorer les effets exacts de ce régime, afin éventuellement de pouvoir l'intégrer dans la prise en charge de la symptomatologie chronique de cette intoxication. Hormis, ces facteurs d'ordre nutritionnel, l'activité physique intense a été proposée comme facteur responsable d'une certaine récurrence des symptômes<sup>174,15</sup>. L'hypothèse souvent avancée, mais jusqu'ici non vérifiée, repose sur la libération, lors de l'effort physique et de la perte de poids relié, des toxines stockées dans les tissus adipeux. Les toxines alors remises en circulation, viendraient se lier aux canaux sodiques des cellules excitables et produiraient des symptômes identiques à ceux ressentis en phase aiguë. Cette théorie particulièrement intéressante n'a pas été

vérifiée dans cette recherche mais, nécessite d'être étudiée avec attention afin d'améliorer la compréhension de la pharmacocinétique de cette intoxication.

À ce stade, il est important de souligner que l'étude, sujet du chapitre 4, ne permet pas de déterminer si les symptômes ressentis sont des récurrences ou des exacerbations des signes de la ciguatera. De même dans le cas où les symptômes ne sont plus ressentis, il est impossible de savoir depuis combien de temps ils ont disparu. Ces lacunes du suivi de la maladie sont reliées aux informations fournies par le patient qui renseigne sur son état de santé des 7 jours précédents l'entrevue. De telles questions pourraient être élucidées par le biais d'une analyse de survie. Ce devis, bien que particulièrement intéressant, n'a pas été retenu dans ce projet de doctorat pour des raisons de faisabilité et d'un manque d'indications scientifiques attestant de présence de signes chroniques de cette maladie.

Au-delà de la mise en évidence de la persistance des symptômes au cours du temps, nous voulions préciser le portrait clinique de la ciguatera par l'utilisation de mesures objectives. Car, comme le constate Schnorf et ses collaborateurs en 2002<sup>105</sup>, la plupart des études portant sur la ciguatera s'attardent à décrire sa symptomatologie mais peu d'entre elles présentent un examen neurologique objectif. Néanmoins, il a cependant été possible grâce aux études expérimentales et aux études cliniques de classer la symptomatologie de la ciguatera dans la pathogénie des neuropathies périphériques et plus particulièrement dans la classe des canalopathies axonales<sup>227,236</sup>. Les résultats obtenus dans notre étude cas-témoins, sujet du chapitre 5, montrent qu'à la phase aiguë les patients atteints par la ciguatera présentent significativement plus de troubles neurologiques que les témoins non exposés aux ciguatoxines. Ces résultats sont observables tant dans l'examen neurologique classique qu'au niveau des tests moteurs assistés par ordinateur et les tests de sensibilité tactile. Ainsi des troubles de l'équilibre, l'aréflexie des membres inférieurs et supérieurs, une hypoesthésie tactile, des troubles de la sensibilité thermique ainsi que des paresthésies ont été observés en proportion plus importante chez les patients que chez les témoins. Ce tableau clinique évoque la présence de polyneuropathie à prédominance sensitive et confirme la symptomatologie. De plus, la présence concomitante de démangeaisons spontanées et de troubles de la sensibilité (thermique et tactile) sont en faveur d'une

altération des fibres mixtes de larges et faibles calibres. À ce stade, il est important de souligner que le tableau clinique observé dans cette étude est en accord avec les observations de cas isolés répertoriés dans la littérature<sup>132,212,64,213,155,78</sup>.

Toutefois, la plupart des troubles mesurés à la phase aiguë dans notre étude semblent disparaître au bout de deux mois. Seules des perturbations de la sensibilité tactile, des démangeaisons et des paresthésies étaient encore détectées chez plus de 50 % des patients 60 jours après le début de l'intoxication. Ces derniers résultats utilisant des mesures objectives de l'état neurologique des patients viennent supporter les résultats obtenus dans l'étude précédente sur la symptomatologie (chapitre 4). Toutefois, sans diminuer la portée de nos résultats, il convient de rester prudent quant à leur interprétation en raison de leurs caractères préliminaires. En effet, l'analyse des résultats de cette étude doit être complétée par l'ajout d'analyses biologiques du méthyle mercure et des oméga-3 dont l'influence a été présentée dans l'introduction de ce document.

Jusqu'à présent la littérature scientifique décrit la ciguatera comme une intoxication alimentaire ayant de multiples symptômes affectant les systèmes gastro-intestinaux, neurologiques, cardiaques associés à une fatigue généralisée. Ces symptômes généralement ressentis dans les premiers jours sont censés disparaître dans les semaines suivant l'intoxication. Tout en confirmant cette précédente description, les études présentées dans les chapitres 4 et 5 ont permis d'apporter certaines précisions à ce tableau clinique quant à la caractérisation et la temporalité de cette maladie. En effet, chez une population sans antécédents médicaux particuliers, neurologiques ou autres, nous avons décelé une prédominance des symptômes neurologiques et diffus dans la phase aiguë de la maladie et détecter leur persistance sur une période d'au moins 2 mois. Ainsi, à la lumière de ces résultats et des connaissances sur la liaison quasi-irréversible des ciguatoxines sur les canaux sodiques, il est possible de relier la disparition progressive des symptômes observés au « turn-over » des canaux sodiques. Cette hypothèse plausible d'un point de vue biologique mériterait cependant d'être vérifiée par une étude de survie.

Les résultats de ces études ont également mis en exergue une importante variabilité dans la sévérité de cette maladie associée principalement à la quantité de toxines ingérées. La

variabilité de cette maladie a souvent été discutée dans la littérature et, de nombreux auteurs ont proposé l'intervention de multiples facteurs tels la multiplicité toxiques, les susceptibilités individuelles, les facteurs relatifs aux habitudes de vie. Bien que négatifs, les résultats présentés dans ce document ne permettent pas d'exclure l'influence de ces facteurs. De plus, il est apparu que la sévérité de la maladie était intimement reliée à la durée des symptômes. Donc, dans le cadre d'une amélioration de la prise en charge de cette intoxication, il appert essentiel d'étudier ces facteurs afin d'élucider leur influence. Finalement, même si la symptomatologie de cette intoxication dans sa phase aiguë semble relativement caractéristique, la variabilité observée chez les 183 patients de ces études, requiert et justifie la poursuite de la recherche d'outil de détection des ciguatoxines dans le sang. L'obtention d'un tel outil serait une aide substantielle pour les médecins peu familiers à ce type d'intoxication mais également aux médecins des zones endémiques pour la confirmation de cas à la symptomatologie équivoque et ainsi éliminer d'autres étiologies éventuelles. Cette avenue est l'une des voies de recherche que nous nous proposons de poursuivre dans nos recherches futures.

L'ensemble de ce projet de doctorat voulait présenter le portrait de la ciguatera dans une zone endémique. Il est important de garder à l'esprit que les résultats obtenus dans ces études sont essentiellement applicables à la région. Bien que le portrait obtenu ne soit pas exhaustif, il apporte une vision d'ensemble réaliste de l'épidémiologie actuelle de la ciguatera en Polynésie Française et propose de nouvelles avenues de recherche qui pourront être utiles à la meilleure compréhension de cette intoxication. Ce projet voulait également apporter de nouvelles notions quant à l'amélioration de la prise en charge de cette intoxication dans le milieu. L'une des questions de ce travail était de savoir si les manifestations neurologiques, persistantes au-delà de la phase aiguë (0-7 jours) de la ciguatera, étaient uniquement associées aux intoxications requérant une hospitalisation. Les résultats obtenus nous suggèrent de répondre par la négative. Cette nouvelle précision quant à la présence probable de multiple symptômes sur une période au moins 2 mois chez 60 % des patients peut être perçue comme avancée notable quant à la prise en charge de cette intoxication. Elle répond également au questionnement de Pearn qui en 1997 associait la méconnaissance de la durée de l'affection aux dépressions observables chez certain



patients. Les patients pourront être informés que la convalescence suite à cette maladie est longue dans la majorité des cas. À présent, il serait intéressant d'affiner nos observations afin de construire un outil prédictif de la durée de la maladie en fonction de la sévérité observée en phase aiguë.

Néanmoins, si ces résultats représentent une avancée appréciable dans la compréhension de la maladie, la prévention reste essentielle en raison de l'absence de traitement efficace de cette intoxication. Au niveau des zones endémiques, la prévention pourrait s'effectuer au niveau environnemental, par la surveillance des algues toxiques, tel que proposé dans ce travail. Actuellement, le message de prévention délivré à la population conseille de ne pas consommer les organes et la tête des poissons. Les résultats de cette étude confortent ce message et incitent à poursuivre cette information puisque près de 16% des participants à notre étude confirme avoir consommé uniquement les organes et la tête. Il conviendra cependant de porter une attention particulière à ce message de prévention afin de ne pas limiter la consommation générale de poisson dont les effets bénéfiques notamment sur le système nerveux ont été largement démontrés. Néanmoins, sachant que l'économie des pays des zones endémiques de la ciguatera est reliée essentiellement au tourisme et à l'exportation de poisson, il appert essentiel de trouver une solution efficace au problème de la ciguatera.

## **Bibliographie**

1. Rowlingson JC, Murphy TM. (2000) Chapter 70 - Chronic Pain. In: Anesthesia. Miller RD, ed Philadelphia, Pennsylvania: Churchill Livingstone, Inc, 2352-2377.
2. Office québécois de la langue française. (2002) Le NOUVEAU Grand dictionnaire terminologique: © Gouvernement du Québec.
3. Andre J-M. (1989) Motricité. In: Encyclopédie Médico-chirurgical - Éditions techniques. C., P., eds. Paris, France: Laffont, A. & Durieux, F., 1011.
4. Garnier M, Delamare V, Delamare J, Delamare-Riche T. (1992) Dictionnaire des termes de médecine, 23<sup>e</sup> Édition. Paris.
5. Schmitt J, Andre J-M. (1989) Sensibilité. In: Encyclopédie Médico-chirurgical - Éditions techniques. C., P., eds. Paris, France: Laffont, A. & Durieux, F., 4-3-10, 1012.
6. Morin Y, al. e. (1998) Larousse Médical. Paris.
7. Halstead B. (1964) Fish poisonings: their diagnosis, pharmacology and treatment. Clin Pharmacol Ther **5**:615-20.
8. Russell FE. (1996) Toxic effects of animal toxins. In: Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons. Emeriti MOA, John Doull., ed New York: McGraw-Hill, 801-839.
9. Sorokin M. (1975) Medical hazards of the coral reef. Trans R Soc Trop Med Hyg **69**(1):94-8.
10. Saavedra-Delgado AM, Metcalfe DD. (1993) Seafood toxins. Clin Rev Allergy **11**(2):241-60.
11. De Sylva D. (1996) Fish species associated with ciguatera in the tropical western atlantic ocean. In: (eds), Workshop conference on seafood intoxications. Pan american implications of natural toxins in seafood, Miami (Florida) 6-10.

12. Bagnis R. (1969) [The "ciguatera"-type intoxications due to poisonous fish]. *Presse Med* **77**(2):59-60.
13. Durborow RM. (1999) Health and safety concerns in fisheries and aquaculture. *Occup Med* **14**(2):373-406.
14. Bagnis R. (1968) Clinical aspects of ciguatera (fish poisoning) in French Polynesia. *Hawaii Med J* **28**(1):25-8.
15. Pearn J. (2001) Neurology of ciguatera. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **70**(1):4-8.
16. Juranovic LR, Park DL. (1991) Foodborne toxins of marine origin: ciguatera. *Rev Environ Contam Toxicol* **117**:51-94.
17. De Haro L, Hayek-Lanthois M, Joossen F, Affaton MF, Jouglard J. (1997) [Mass ciguatera poisoning after eating barracuda in Mexico: prognostic and therapeutic implications]. *Med Trop* **57**(1):55-8.
18. Bassetti D. (1984) Ciguatera poisoning [letter]. *South Med J* **77**(3):406.
19. Schiazza L, Bleidl D, Occella C, Rampini E. (1988) [Xenodermatoses: ciguatera. A case]. *G Ital Dermatol Venereol* **123**(1-2):41-5.
20. Raikhlin-Eisenkraft B, Finkelstein Y, Spanier E. (1988) Ciguatera-like poisoning in the Mediterranean. *Vet Hum Toxicol* **30**(6):582-3.
21. Raikhlin-Eisenkraft B, Bentur Y. (2002) Rabbitfish ("aras"): an unusual source of ciguatera poisoning. *Isr Med Assoc J* **4**(1):28-30.
22. Frenette C, MacLean JD, Gyorkos TW. (1988) A large common-source outbreak of ciguatera fish poisoning. *J Infect Dis* **158**(5):1128-31.
23. Todd EC. (1992) How Ciguatera affects Canadians. In: TR. T (eds), Third international conference on Ciguatera Fish poisoning, Quebec, Canada 181-195.

24. Bruneau A, Mahanty S, al-Azraqi T, MacLean J, Bourque M, Desroches F. (1997) Ciguatera fish poisoning linked to the ingestion of barracuda in a Montreal restaurant-Quebec. *Can Commun Dis Rep* **23**(20):153-6.
25. Todd EC. (1997) Seafood-associated diseases and control in Canada. *Rev Sci Tech* **16**(2):661-72.
26. Pilon P, Dion R, Jochem K, et al. (2000) Ciguatera food poisoning linked to the consumption of imported barracuda-Montreal, Quebec, 1998. *Can Commun Dis Rep* **26**(9):73-6.
27. Fleming L, Baden DG, Bean JA, Weisman R, Blythe DG. (1998) Seafood toxin diseases: Issues in epidemiology and community outreach. In: Xunta de Galicia, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO (eds), *Proceedings of the VIII International Conference on Harmful Algae*, Vigo, Spain. Santiago de Compostela (Spain)245–8.
28. Johnson R, Jong EC. (1983) Ciguatera: Caribbean and Indo-Pacific fish poisoning. *West J Med* **138**(6):872-4.
29. Barton ED, Tanner P, Turchen SG, Tunget CL, Manoguerra A, Clark RF. (1995) Ciguatera fish poisoning. A southern California epidemic. *West J Med* **163**(1):31-5.
30. Blythe DG, De Sylva DP, Fleming LE, Ayyar RA, Baden DG, Shrank K. (1992) Clinical experience with i.v. Mannitol in the treatment of ciguatera. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):425-6.
31. Hokama Y, Asahina AY, Titus E, et al. (1993) A survey of ciguatera: assessment of Puako, Hawaii, associated with ciguatera toxin epidemics in humans. *J Clin Lab Anal* **7**(3):147-54.
32. Palafox NA, Jain LG, Pinano AZ, Gulick TM, Williams RK, Schatz IJ. (1988) Successful treatment of ciguatera fish poisoning with intravenous mannitol. *Jama* **259**(18):2740-2.

33. Glaziou P, Legrand AM. (1994) The epidemiology of ciguatera fish poisoning. *Toxicon* **32**(8):863-73.
34. Lewis ND. (1986) Disease and development: ciguatera fish poisoning. *Soc Sci Med* **23**(10):983-93.
35. Ting JY, Brown AF, Pearn JH. (1998) Ciguatera poisoning: an example of a public health challenge. *Aust N Z J Public Health* **22**(1):140-2.
36. Bagnis RA. (1979) [Ciguatera fish poisoning in New Caledonia. Clinical and epidemiological aspects (author's transl)]. *Rev Epidemiol Sante Publique* **27**(1):17-29.
37. Ruff TA. (1989) Ciguatera in the Pacific: a link with military activities. *Lancet* **1**(8631):201-5.
38. Brulés J. (1997) Ciguatera fish poisoning: a review. Sanitary and economic aspects. INSERM ed. Paris.
39. Pottier I, Vernoux JP, Lewis RJ. (2001) Ciguatera fish poisoning in the Caribbean islands and Western Atlantic. *Rev Environ Contam Toxicol* **168**:99-141.
40. Escalona De Motta G, De La Noceda G. (1985) Epidemiological clinical and experimental aspects of ciguatera in Puerto Rico. In: Gabrie C, Salvat B (eds), *Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress, Tahiti, Antenne Museum-Ephe, Moorea*:4, 415.
41. Pottier I, Vernoux JP. (2003) [Evaluation of Antilles fish ciguatoxicity by mouse and chick bioassays]. *Bull Soc Pathol Exot* **96**(1):24-8.
42. Czernichow P, Droy JM, Ezelin F, Leroy J. (1984) Epidemiology of Ciguatera in the Iles Saintes (Guadeloupe). *Rev Epidemiol Sante Publique* **32**(5):315-21.

43. Morris JG, Jr., Lewin P, Smith CW, Blake PA, Schneider R. (1982) Ciguatera fish poisoning epidemiology of the disease on St. Thomas, U.S. Virgin Islands. *Am J Trop Med Hyg* **31**(3 Pt 1):574-8.
44. Lawrence DN, Enriquez MB, Lumish RM, Maceo A. (1980) Ciguatera fish poisoning in Miami. *JAMA* **244**(3):254-8.
45. Goodman A, Williams TN, Maitland K. (2003) Ciguatera poisoning in Vanuatu. *Am J Trop Med Hyg* **68**(2):263-6.
46. Capra MF, Cameron J. (1985) Epidemiological and social surveys of the incidence and the attitudes towards ciguatera poisoning in tow australian communities. In: Gabrie CaS, B. (eds), 5th int. Coral reef congress, Tahiti489.
47. Gollop JH, Pon EW. (1992) Ciguatera: a review [see comments]. *Hawaii Med J* **51**(4):91-9.
48. Quod JP, Turquet J. (1996) Ciguatera in Reunion Island (SW Indian Ocean): epidemiology and clinical patterns. *Toxicon* **34**(7):779-85.
49. Hamburger HA. (1986) The neuro-ophthalmologic signs of ciguatera poisoning: a case report. *Ann Ophthalmol* **18**(10):287-8.
50. Sozzi G, Marotta P, Aldeghi D, Tredici G, Calvi L. (1988) Polyneuropathy secondary to ciguatoxin poisoning. *Ital J Neurol Sci* **9**(5):491-5.
51. Stommel EW, Parsonnet J, Jenkyn LR. (1991) Polymyositis after ciguatera toxin exposure. *Arch Neurol* **48**(8):874-7.
52. Stommel EW, Jenkyn LR, Parsonnet J. (1993) Another case of polymyositis after ciguatera toxin exposure [letter]. *Arch Neurol* **50**(6):571.
53. Asaeda G. (2001) The transport of ciguatoxin: a case report. *J Emerg Med* **20**(3):263-5.

54. Bagnis R, Kuberski T, Laugier S. (1979) Clinical observations on 3,009 cases of ciguatera (fish poisoning) in the South Pacific. *Am J Trop Med Hyg* **28**(6):1067-73.
55. Barkin RM. (1974) Ciguatera poisoning: a common source outbreak. *South Med J* **67**(1):13-6.
56. Bagnis RA. (1973) [Clinical and epidemiological aspects of ciguatera in the Marquesas Islands]. *Bull World Health Organ* **49**(1):67-73.
57. Fasano A, Hokama Y, Russell R, Morris JG, Jr. (1991) Diarrhea in ciguatera fish poisoning: preliminary evaluation of pathophysiological mechanisms. *Gastroenterology* **100**(2):471-6.
58. Terao K, Ito E, Oarada M, Ishibashi Y, Legrand AM, Yasumoto T. (1991) Light and electron microscopic studies of pathologic changes induced in mice by ciguatoxin poisoning. *Toxicon* **29**(6):633-43.
59. Ito E, Yasumoto T, Terao K. (1996) Morphological observations of diarrhea in mice caused by experimental ciguatoxicosis. *Toxicon* **34**( 1):111-122.
60. Swift AE, Swift TR. (1993) Ciguatera. *J Toxicol Clin Toxicol* **31**(1):1-29.
61. Allsop JL, Martini L, Lebris H, Pollard J, Walsh J, Hodgkinson S. (1986) Neurologic manifestations of ciguatera. 3 cases with a neurophysiologic study and examination of one nerve biopsy. *Rev Neurol* **142**(6-7):590-7.
62. Cameron J, Capra MF. (1993) The basis of the paradoxical disturbance of temperature perception in ciguatera poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* **31**(4):571-9.
63. Purcell CE, Capra MF, Cameron J. (1999) Action of mannitol in ciguatoxin-intoxicated rats. *Toxicon* **37**(1):67-76.
64. Butera R, Prockop LD, Buonocore M, Locatelli C, Gandini C, Manzo L. (2000) Mild ciguatera poisoning: Case reports with neurophysiological evaluations. *Muscle Nerve* **23**(10):1598-1603.

65. Benoit E, Juzans P, Legrand AM, Molgo J. (1996) Nodal swelling produced by ciguatoxin-induced selective activation of sodium channels in myelinated nerve fibers. *Neuroscience* **71**(4):1121-31.
66. Benoit E. (1998) [Mechanism of action of neurotoxins acting on the inactivation of voltage-gated sodium channels]. *C R Seances Soc Biol Fil* **192**(3):409-36.
67. Lombet A, Bidard JN, Lazdunski M. (1987) Ciguatoxin and brevetoxins share a common receptor site on the neuronal voltage-dependent Na<sup>+</sup> channel. *FEBS Lett* **219**(2):355-9.
68. Baden D, Fleming L, Bean JA. (1995) Marine Toxins. In: *Handbook of clinical neurology: intoxications of the nervous system. II Natural toxins and drugs.* Wolff FAd, ed Amsterdam.: Elsevier.
69. Hogg RC, Lewis RJ, Adams DJ. (1998) Ciguatoxin (CTX-1) modulates single tetrodotoxin-sensitive sodium channels in rat parasympathetic neurones. *Neurosci Lett* **252**(2):103-6.
70. Dechraoui M-Y, Naar J, Pauillac S, A.-M. L. (1999) Ciguatoxins and brevetoxins, neurotoxin polyether compounds active on sodium channels. *Toxicon* **37**(125-143).
71. Mattei C, Dechraoui MY, Molgo J, Meunier FA, Legrand AM, Benoit E. (1999) Neurotoxins targetting receptor site 5 of voltage-dependent sodium channels increase the nodal volume of myelinated axons. *J Neurosci Res* **55**(6):666-73.
72. Molgo J, Benoit E, Mattei C, Legrand AM. (1999) Neuropathology of ciguatera fish poisoning: involvement of voltage-dependent sodium channels. *Neuropathol. Appl. Neurol.* **25**(Suppl.1):4-5.
73. Coleman AM. (1990) Ciguatoxin-induced food poisoning in a community. Implications for disease surveillance and medical practice in Jamaica. *West Indian Med J* **39**(4):233-8.



74. Hogg RC, Lewis RJ, Adams DJ. (2002) Ciguatoxin-induced oscillations in membrane potential and action potential firing in rat parasympathetic neurons. *Eur J Neurosci* **16**(2):242-8.
75. Hidalgo J, Liberona JL, Molgo J, Jaimovich E. (2002) Pacific ciguatoxin-1b effect over Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> currents, inositol 1,4,5-triphosphate content and intracellular Ca<sup>2+</sup> signals in cultured rat myotubes. *Br J Pharmacol* **137**(7):1055-62.
76. Morris J. (1999) Harmful Algal Blooms: an emerging public health problem with possible links to humawn stress on the environment. *AR Energy Environ.* **24**(1):367-390.
77. Morris JG, Jr., Lewin P, Hargrett NT, Smith CW, Blake PA, Schneider R. (1982) Clinical features of ciguatera fish poisoning: a study of the disease in the US Virgin Islands. *Arch Intern Med* **142**(6):1090-2.
78. Farstad DJ, Chow T. (2001) A brief case report and review of ciguatera poisoning. *Wilderness Environ Med* **12**(4):263-9.
79. Halley F. (1972) Ichtyosarcotoxisme. *Caraïbe Medical* **3**:18-24.
80. Miller RM, Pavia S, Keary P. (1999) Cardiac toxicity associated with ciguatera poisoning. *Aust N Z J Med* **29**(3):373-4.
81. Bourdeau P. (1986) Épidémiologie de la ciguatera aux Antilles: Plateau de l'Anguilla, Étude en 1985-1986. Report:IFREMER-ENVA. 304.
82. Lewis RJ, Hoy AW, McGiffin DC. (1992) Action of ciguatoxin on human atrial trabeculae. *Toxicon* **30**(8):907-14.
83. Katz AR, Terrell-Perica S, Sasaki DM. (1993) Ciguatera on Kauai: investigation of factors associated with severity of illness. *Am J Trop Med Hyg* **49**(4):448-54.
84. Marquais M, Sauviat MP. (1999) [Effect of ciguatoxins on the cardiocirculatory system]. *J Soc Biol* **193**(6):495-504.

85. Geller RJ, Benowitz NL. (1992) Orthostatic hypotension in ciguatera fish poisoning. *Arch Intern Med* **152**(10):2131-3.
86. Ito E, Suzuki-Toyota F, Toshimori K, et al. (2003) Pathological effects on mice by gambierol, possibly one of the ciguatera toxins. *Toxicon* **42**(7):733-40.
87. Dechraoui MY, Legrand A-M, Sauviat MP. (1998) Alteration of the plateau of cardiac muscle action potential by ciguatoxin-3C. *Toxicon* **36**(12):1734.
88. Mattei C, Molgo J, Legrand AM, Benoit E. (1999) [Ciguatoxins and brevetoxins: dissection of the neurobiological actions]. *J Soc Biol* **193**(3):329-44.
89. Sauviat MP. (1999) [Muscarinic modulation of cardiac activity]. *J Soc Biol* **193**(6):469-80.
90. Lewis RJ. (2000) Ion channel toxins and therapeutics: from cone snail venoms to ciguatera [In Process Citation]. *Ther Drug Monit* **22**(1):61-4.
91. Racciatti D, Vecchiet J, Ceccomancini A, Ricci F, Pizzigallo E. (2001) Chronic fatigue syndrome following a toxic exposure. *Sci Total Environ* **270**(1-3):27-31.
92. Levin B, Arena P, Fleming L. (2001) A pilot study of the cognitive and psychological correlates of chronic ciguatera poisoning.
93. Pearn J, Harvey P, De Ambrosis W, Lewis R, McKay R. (1982) Ciguatera and pregnancy [letter]. *Med J Aust* **1**(2):57-8.
94. Senecal PE, Osterloh JD. (1991) Normal fetal outcome after maternal ciguateric toxin exposure in the second trimester. *J Toxicol Clin Toxicol* **29**(4):473-8.
95. Blythe DG, de Sylva DP. (1990) Mother's milk turns toxic following fish feast [letter] [see comments]. *Jama* **264**(16):2074.
96. Lange WR, Lipkin KM, Yang GC. (1989) Can ciguatera be a sexually transmitted disease? *J Toxicol Clin Toxicol* **27**(3):193-7.

97. Ting JY, Brown AF. (2001) Ciguatera poisoning: a global issue with common management problems. *Eur J Emerg Med* **8**(4):295-300.
98. Mattei C, Molgo J, Marquais M, Vernoux J, Benoit E. (1999) Hyperosmolar D-mannitol reverses the increased membrane excitability and the nodal swelling caused by Caribbean ciguatoxin-1 in single frog myelinated axons. *Brain Res* **847**(1):50-8.
99. Pearn JH, Lewis RJ, Ruff T, et al. (1989) Ciguatera and mannitol: experience with a new treatment regimen [see comments]. *Med J Aust* **151**(2):77-80.
100. Williams RK, Palafox NA. (1990) Treatment of pediatric ciguatera fish poisoning. *Am J Dis Child* **144**(7):747-8.
101. Williamson J. (1990) Ciguatera and mannitol: a successful treatment [letter; comment]. *Med J Aust* **153**(5):306-7.
102. Stewart MP. (1991) Ciguatera fish poisoning: treatment with intravenous mannitol. *Trop Doct* **21**(2):54-5.
103. Bagnis R, Spiegel A, Boutin JP, et al. (1992) [Evaluation of the efficacy of mannitol in the treatment of ciguatera in French Polynesia]. *Med Trop (Mars)* **52**(1):67-73.
104. Blythe D, Fleming L, Ram Ayyar D, De sylvia D, DG. B, Schrank K. (1994) Mannitol therapy for acute and chronic ciguatera fish poisoning. *Memoirs of the Queens land museum*.
105. Schnorf H, Taurarii M, Cundy T. (2002) Ciguatera fish poisoning: a double-blind randomized trial of mannitol therapy. *Neurology* **58**(6):873-80.
106. Laird MA, Gidal BE. (2000) Use of gabapentin in the treatment of neuropathic pain. *Ann Pharmacother* **34**(6):802-7.
107. Perez CM, Vasquez PA, Perret CF. (2001) Treatment of ciguatera poisoning with gabapentin. *N Engl J Med* **344**(9):692-3.

108. Vega RM, Perez N. (2002) Toxicity, Marine-Ciguatera. *emedicine* ed.
109. Bowman PB. (1984) Amitriptyline and ciguatera [letter]. *Med J Aust* **140**(13):802.
110. Davis RT, Villar LA. (1986) Symptomatic improvement with amitriptyline in ciguatera fish poisoning [letter]. *N Engl J Med* **315**(1):65.
111. Calvert GM, Hryhorczuk DO, Leikin JB. (1987) Treatment of ciguatera fish poisoning with amitriptyline and nifedipine. *J Toxicol Clin Toxicol* **25**(5):423-8.
112. Plantz SH. (2001) Ciguatera Toxin: *emedecin*.
113. Randall JE. (1958) A review of ciguatera, tropical fish poisoning, with a tentative of explanation of its cause. *Bull. Mar. Sci. Gulf and Carribean* **8**:236-267.
114. Helfrich P, Banner HA. (1963) Experimental induction of ciguatera toxicity in fish through diet. *Nature* **197**:1026-1027.
115. Yasumoto T, Nakajima I, Bagnis R, Adachi R. (1977) Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bull.J. Soc.Sci. Fish* **43**:1021-1026.
116. Bagnis R, Chanteau S, Chungue E, Hurtel JM, Yasumoto T, Inoue A. (1980) Origins of ciguatera fish poisoning: a new dinoflagellate, *Gambierdiscus toxicus* Adachi and Fukuyo, definitively involved as a causal agent. *Toxicon* **18**(2):199-208.
117. Adachi R, Fukuyo Y. (1979) The thecal structure of a marine toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. no. collected in ciguatera endemic area. *Bull Jap Soc Sci Fish* **45**:67.
118. Bagnis R, Hurtel JM, Fukuyo Y, Inoue A, Yasumoto T. (1979) Quelques aspects morphologiques et biologiques du dinoflagellé responsable de la ciguatera. *C R Acad Sc Paris* **t(289)**:639-642.
119. Yasumoto T. (2001) The chemistry and biological function of natural marine toxins. *Chem Rec* **1**(3):228-42.

120. Tosteson TR, Ballantine DL, Durst HD. (1988) Seasonal frequency of ciguatoxic barracuda in southwest Puerto Rico. *Toxicon* **26**(9):795-801.
121. Tosteson TR. (1995) The diversity and origins of toxins in ciguatera fish poisoning. *P R Health Sci J* **14**(2):117-29.
122. Sakamoto Y, Lockey RF, Krzanowski JJJ. (1987) Shellfish and fish poisoning related to the toxic dinoflagellates. *South Med J* **80**(7):866-72.
123. Holmes MJ, Lewis RJ, Poli MA, Gillespie NC. (1991) Strain dependent production of ciguatoxin precursors (gambiertoxins) by *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) in culture. *Toxicon* **29**:761-775.
124. Murata M, Legrand AM, Ishibashi Y, Yasumoto T. (1989) Structures of ciguatoxin and its congener. *J Am Chem Soc* **111**(24):8929-8931.
125. Murata M, Legrand A-M, ISHIBASHI Y, Fukui M, Yasumoto T. (1990) Structures and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus* and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J Am Chem Soc* **112**(11):4380-4386.
126. Satake M, Ishibashi Y, Legrand A-M, Yasumoto T. (1997) Isolation and structure of ciguatoxin-4A, a new ciguatoxin precursor from cultures of dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* and parrotfish *Scarus gibbus*. *Biosci. Biotech. Biochem* **60**:2103-2105.
127. Vernoux JP, Lewis RJ. (1997) Isolation and characterisation of Caribbean ciguatoxins from the horse-eye jack (*Caranx latus*). *Toxicon* **35**(6):889-900.
128. Lewis RJ, Vernoux JP, Bereton IM. (1998) Structure of Caribbean ciguatoxin isolated from *Caranx latus*. *J. Am. Chem. Soc.* **120**:5914-5920.
129. Hamilton B, Hurbungs M, Vernoux JP, Jones A, Lewis RJ. (2002) Isolation and characterisation of Indian Ocean ciguatoxin. *Toxicon* **40**(6):685-93.

130. Pottier I, Vernoux JP, Jones A, Lewis RJ. (2002) Characterisation of multiple Caribbean ciguatoxins and congeners in individual specimens of horse-eye jack (*Caranx latus*) by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Toxicon* **40**(7):929-39.
131. Tosteson T. (1996) Ciguatera in Puerto Rico. In: (eds), Workshop conference on seafood intoxications. Pan american implications of natural toxins in seafood, Miami (Florida): 80.
132. Angibaud G, Rambaud S. (1998) Serious neurological manifestations of ciguatera: is the delay unusually long? [letter]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **64**(5):688-9.
133. Poli MA, Musser SM, Dickey RW, et al. (2000) Neurotoxic shellfish poisoning and brevetoxin metabolites: a case study from Florida. *Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment [Neurological features after consumption of a variety of neo-caledonian shellfish] Insidious effects of a toxic estuarine dinoflagellate on fish survival and human health.* *Toxicon* **38**(7):981-93.
134. Park DL. (1994) Evolution of methods for assessing ciguatera toxins in fish. *Rev Environ Contam Toxicol* **136**:1-20.
135. Lewis RJ. (1995) Detection of ciguatoxins and related benthic dinoflagellate toxins: *in vivo* and *in vitro* methods. In: Manual on harmful marine microalgae. UNESCO, ed: IOC, 135-161.
136. Quilliam AM. (1996) Seafood Toxins. *J AOAC Int* **79**(1):209-213.
137. Quilliam MA. (1999) Phycotoxins. *J AOAC Int* **82**(3):773-81.
138. Hokama Y. (1985) A rapid, simplified enzyme immunoassay stick test for the detection of ciguatoxin and related polyethers from fish tissues. *Toxicon* **23**(6):939-46.

139. Fleming LE, Baden DG, Ayyar RA, et al. (1992) A pilot study of a new ELISA test for ciguatoxin in humans. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):508-9.
140. Matta J, Navas J, Milad M, Manger R, Hupka A, Frazer T. (2002) A pilot study for the detection of acute ciguatera intoxication in human blood. *J Toxicol Clin Toxicol* **40**( 1):49 - 57.
141. Pauillac S, Sasaki DM, Naar J, et al. (1997) Immunochemical methods for ciguatoxin detection in pacific herbivorous and carnivorous fish. In: JY SBS (eds), 5th Indo-Pac. Fish Conf., Nouméa:759-773.
142. Pauillac S, Sasaki M, Inoue M, et al. (2000) Characterization of mice antisera elicited with a ciguatoxin tetracyclic synthetic ring fragment (JKLM) conjugated to carrier proteins. *Toxicon* **38**(5):669-85.
143. Oguri H, Hiramama M, Tsumuraya T, et al. (2003) Synthesis-based approach toward direct sandwich immunoassay for ciguatoxin CTX3C. *J Am Chem Soc* **125**(25):7608-12.
144. Baden DG, Melinek R, Sechet V, et al. (1995) Modified immunoassays for polyether toxins: implications of biological matrixes, metabolic states, and epitope recognition. *J AOAC Int* **78**(2):499-508.
145. Pearn J. (1989) Ciguatera--an early report [letter]. *Med J Aust* **151**(11-12):724-5.
146. Fleming L, Dewailly É, Baden DG. (2000) The epidemiologic of marine harmful algal blooms. *Epidemiology* **11**(4):S143.
147. Epstein P. (1995) Emerging disease and ecosystem instability: new threats to public health. *American Journal of Public Health* **85**(2): 168-172.
148. Epstein P. (1996) Changing coastal marine environments and human health. *Ecosystem Health* **2**(3):166-176.

149. De Sylva D. (1999) Global warming and potential range extensions of poisonous and dangerous marine organisms. *World Resour. Rev* **11**(2):174-189.
150. Hales S, Kovats E, Woodward A. (2000) What El Nino can tell us about human health and global climate change. *Global change & human health* **1**(1):2-13.
151. Van Dolah FM. (2000) Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ Health Perspect* **108 Suppl 1**:133-41.
152. Hales S, Weinstein P, Woodward A. (1999) Ciguatera ( fish poisoning), El Nino, and sea surface temperature. *Ecosystem Health* **5**:20-25.
153. Chretien JH, Fermaglich J, Garagusi VF. (1981) Ciguatera poisoning. Presentation as a neurologic disorder. *Arch Neurol* **38**(12):783.
154. Angibaud G, Leveque JM, Laurent D, Gaultier C. (2000) [Neurological features after consumption of a variety of neo-caledonian shellfish]. *Rev Neurol (Paris)* **156**(1):65-6.
155. Chan TY, Kwok TC. (2001) Chronicity of neurological features in ciguatera fish poisoning. *Hum Exp Toxicol* **20**(8):426-8.
156. Keynan Y, Pottesman I. (2004) Neurological symptoms in a traveller returning from Central America. *J Intern Med* **256**(2):174-5.
157. Lindsay J. (1997) Chronic sequelae of foodborne disease. *Emerging infectious diseases* **3**(4):443-452.
158. Glaziou P, Martin PM. (1993) Study of factors that influence the clinical response to ciguatera fish poisoning. *Toxicon* **31**(9):1151-4.
159. Lange WR. (1993) Severity rating scales for ciguatera fish poisoning. *Toxicon* **31**(6):777-81.



160. Lange WR, Snyder FR, Fudala PJ. (1992) Travel and ciguatera fish poisoning. Arch Intern Med **152**(10):2049-53.
161. Pearn JH. (1997) Chronic fatigue syndrome: chronic ciguatera poisoning as a differential diagnosis. Med J Aust **166**(6):309-10.
162. Chan TY. (1998) Lengthy persistence of ciguatoxin in the body. Trans R Soc Trop Med Hyg **92**(6):662.
163. Stordy BJ. (2000) Dark adaptation, motor skills, docosahexaenoic acid, and dyslexia. Am J Clin Nutr **71**:323S-326S.
164. Das UN. (2000) Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **63**(6):351-62.
165. Beuter A, de Geoffroy A, Edwards R. (1999) Analysis of rapid alternating movements in Cree subjects exposed to methylmercury and in subjects with neurological deficits. Environ Res **80**(1):64-79.
166. Dewailly E, Blanchet C, Gingras S, Sauvé L, Bergeron J. (2001) Effects of omega-3 fatty acids on risk factors of cardiovascular diseases among Indian Crees. Am J Clin Nutrition **74**(4):464-73.
167. Bagnis R. (1992) [Ciguatera in French Polynesian islands: of coral, fish and men]. Bull Soc Pathol Exot **85**(5):412-4.
168. Chinain M, Germain M, Paulliac S, Legrand A-M. (1999) Seasonal abundance and toxicity of the dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae), the causative agent of ciguatera in Tahiti, French Polynesia. Marine Biology **135**(2):259-267.
169. Carlson R. (1984) Distribution, periodicity and culture of benthic/epiphytic dinoflagellates in a ciguatera endemic region of the Caribbean. PhD Thesis: Southern Illinois, Department of botany, Illinois.

170. Gillespie NC, Holmes MJ, Burke J, Doley J. (1985) Distribution and periodicity of *Gambierdiscus toxicus* in Queensland, Australia. In: Toxic dinoflagellates. Anderson DM, White, A. Baden, D.G., ed London: Elsevier, 183-188.
171. Bomber J, Guillard R, Nelson WG. (1988) Roles of temperatures, salinity, and light in seasonality, growth, and toxicity of ciguatera-causing *Gambierdiscus toxicus* Adachi & Fukuyo (Dinophyceae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. **11**:53-65.
172. Epstein P, Ford TE, Colwell RR. (1993) Marine ecosystems. The Lancet **342**:1216-1219.
173. Colwell RR. (1996) Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. Science **274**(5295):2025-31.
174. Lehane L, Lewis RJ. (2000) Ciguatera: recent advances but the risk remains. Int J Food Microbiol **61**(2-3):91-125.
175. Box G, Jenkins G. (1976) Times series analysis: Forecasting and control. second ed. San Francisco, Ca: Holden Day.
176. Helfenstein U. (1991) The use of transfer function models, intervention analysis and related time series methods in epidemiology. Int J Epidemiol **20**(3):808-15.
177. Nelson BK. (1998) Statistical methodology: V. Time series analysis using autoregressive integrated moving average (ARIMA) models. Acad Emerg Med **5**(7):739-44.
178. Nobre FF, Monteiro AB, Telles PR, Williamson GD. (2001) Dynamic linear model and SARIMA: a comparison of their forecasting performance in epidemiology. Stat Med **20**(20):3051-69.
179. Lapointe C. (1998) Séries chronologiques en santé publique, initiation à la modélisation ARIMA. Ste-foy: Lepoint.

180. Ljung G, Box G. (1978) On a measure of lack of fit in time series models. *Biometrika* **65**:297-304.
181. Bagnis R, Legrand A-M, Inoue A. (1990) Follow-up of a bloom the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* on a fringing reef of Tahiti. In: Toxic marine phytoplankton. Granéli E. Sundström B. Edler LA, D.M., ed New York: Elsevier Scientific Publication, 98-103.
182. Morton SL, Bomber JW, Tindall PM. (1992) Effect of temperature, salinity and light intensity on the growth and seasonality of toxic dinoflagellates associate with ciguatera. *J. Exp. Mar. Biol.Ecol.* **157**:79-90.
183. Hokama Y, Ebesu J, Asuncion DA, Nagai H. (1996) Growth and cyclic studies of *Gambierdiscus toxicus* in the natural environment and in culture. In: Harmful and toxic algal blooms. Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y, eds. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 313-315.
184. Morton SL, Faust MA. (1997) Survey of toxic epiphytic dinoflagellates from the Belizean barrier reef ecosystem. *Bulletin of Marine Science* **61**(3):899-906.
185. Sakami T, Nakahara H, Chinain M, Ishida Y. (1999) Effects of epiphytic bacteria on the growth of the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **233**(2):231-246.
186. Sakamoto B, Nagai H, Hokama Y. (1996) Stimulators of *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) growth: The possible role of gambieric acid-A as an endogenous growth enhancer. *Phycologia* **35**(4):350-353.
187. Nakahara H, Sakami T, Chinain M, Ishida Y. (1996) The role of macroalgae in epiphytism of the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae). *Phycological-Research* **44**(2):113-117.

188. Bourdeau P, Bagnis R. (1989) [Risk factors of ciguatera in the French West Indies in Saint- Barthelemy, Saint-Martin and Anguilla]. *Rev Elev Med Vet Pays Trop* **42**(3):393-410.
189. Legrand A-M, Bagnis R. (1991) La ciguatéra: un phénomène d'écotoxicologie des récifs coralliens. *Annales de l'Institut Pasteur. Paris*, 253-266.
190. Halloran EM. (1998) Concepts of infectious disease epidemiology. In: *Modern Epidemiology*. Rothman KG, S., ed Philadelphia: Lippincott-Raven, 529-555.
191. Moore MR, Shaw G. (2000) Aquatic toxicology. *Ther Drug Monit* **22**(1):58-60.
192. Rose JB, Epstein PR, Lipp EK, Sherman BH, Bernard SM, Patz JA. (2001) Climate variability and change in the United States: potential impacts on water- and foodborne diseases caused by microbiologic agents. *Environ Health Perspect* **109 Suppl 2**:211-21.
193. Lewis RJ. (1992) Socioeconomic impacts and management ciguatera in the Pacific. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):427-34.
194. Lehane L. (2000) Ciguatera update. *Med J Aust* **172**(4):176-9.
195. Shuval H. (2000) A preliminary estimate of the global disease burden associated with disease caused by wastewater pollution of the marine environment. In: (eds), *Coastal Oceans observation Panel, Costa Rica* 1-10.
196. Sanner BM, Rawert B, Henning B, Zidek W. (1997) Ciguatera fish poisoning following travel to the tropics. *Z Gastroenterol* **35**(5):327-30.
197. Kraa E, Campbell B, Levy M, Stewart G. (1994) Delayed diagnoses and reporting during an outbreak of ciguatera poisoning [letter]. *Med J Aust* **161**(8):510.
198. Greenland S, Rothman KJ. (1998) Introduction to stratified analysis. In: *Modern Epidemiology, 2nd Edition*. Rothman KG, S., ed Philadelphia: Lippincott-Raven, 253-280.

199. Kleinbaum D, Kupper L, Muller KE, Nizam A. (1998) Poisson regression analysis. In: Applied regression analysis and other multivariable methods (3rd edition). Kugushev A, ed Pacific Grove: Duxbury Press, 687-709.
200. Bagnis R, Bennett J, Barsinas M, et al. (1985) Epidemiology of ciguatera in French Polynesia From 1960 to 1984. In: Gabrie C SB (eds), Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress, Tahiti, Antenne Museum-Ephe, Moorea:4, 475-482.
201. Coyne T. (1984) The effect of urbanization and western diet on the health of Pacific island populations. In: South Pacific Commission technical paper. JC B, Taylor R, eds. Noumea, New Caledonia: South Pacific Commission, 1-175.
202. Bagnis R, Rougerie F, Orempuller J, Jardin C. (1992) Coral bleaching as a cause of potential proliferation of *Gambierdiscus Toxicus*. Bull Soc Pathol Exot **85**:525.
203. Lewis RJ. (2001) The changing face of ciguatera. Toxicon **39**(1):97-106.
204. Champetier De Ribes G, Rasolofonirina RN, Ranaivoson G, Razafimahefa N, Rakotoson JD, Rabeson D. (1997) Intoxication by marine animal venoms in Madagascar (ichthyosarcotoxism and chelonitoxism): recent epidemiological data. Bull Soc Pathol Exot **90**(4):286-90.
205. Czernichow P, Droy JM, Ezelin F, Leroy J. (1984) Ciguatera in the Iles des Saintes (Guadeloupe). A disease transmitted by fish (letter). Presse Med **13**(4):222.
206. Kuczmarski RJ, Flegal KM. (2000) Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. Am J Clin Nutr **72**(5):1074-81.
207. Mou Y, Gleize L, Nguyen Ngoc L. (1998) Enquête sur les maladies non transmissibles en Polynésie Française. Report: Direction de la Santé en Polynésie Française- Institut Territorial de Recherche Médicale Louis Malardé. Papeete, 1-87.

208. Liang K, Zeger S. (1986) Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika* **73**(13–22).
209. Zeger SL, Liang KY. (1986) Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics* **42**(1):121-30.
210. Gillespie NC, Lewis RJ, Pearn JH, et al. (1986) Ciguatera in Australia. Occurrence, clinical features, pathophysiology and management. *Med J Aust* **145**(11-12):584-90.
211. Park DL, Ayala, C.E. (1999) Reduction of risks associated with foodborn fungal and aquatic biotoxins. Report: FEDRIP database, national technical information service (ntis).
212. Crump JA, McLay CL, Chambers ST. (1999) Ciguatera fish poisoning. *Postgrad Med J* **75**(889):678-9.
213. Derouiche F, Cohen E, Rodier G, Boulay C, Courtois S. (2000) Ciguatera and peripheral neuropathy: a case report. *Rev Neurol (Paris)* **156**(5):514-516.
214. Chateau-Degat M-L, Huin-Blondey M-O, Nguyen N, Dewailly E. (2004) Chronic symptoms experienced in ciguatera disease: first assessment of survival curve. [*In preparation*].
215. Bagnis RA, Bronstein JA, Jouffe G, et al. (1977) [Neurologic complications of ciguatera]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* **70**(1):89-93.
216. Cameron J, Flowers AE, Capra MF. (1991) Electrophysiological studies on ciguatera poisoning in man (Part II). *J Neurol Sci* **101**(1):93-7.
217. Cameron J, Flowers AE, Capra MF. (1991) Effects of ciguatoxin on nerve excitability in rats (Part I). *J Neurol Sci* **101**(1):87-92.
218. McKeown-Eyssen GE, Ruedy J. (1983) Prevalence of neurological abnormality in Cree Indians exposed to methylmercury in northern Quebec. *Clin Invest Med* **6**(3):161-9.

219. Crawford MA, Bloom M, Broadhurst CL, Schmidt WF, SCea. C. (1999) Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids* **34 (suppl)**:S39-47.
220. Beuter A, de Geoffroy A, Edwards R. (1999) Quantitative analysis of rapid pointing movements in Cree subjects exposed to mercury and in subjects with neurological deficits. *Environ Res* **80(1)**:50-63.
221. Beuter A, Edwards R, deGeoffroy A, Mergler D, Hundnell K. (1999) Quantification of neuromotor function for detection of the effects of manganese. *Neurotoxicology* **20(2-3)**:355-66.
222. Despres C, Lamoureux D, Beuter A. (2000) Standardization of a neuromotor test battery: the CATSYS system. *Neurotoxicology* **21(5)**:725-35.
223. Edwards R, Beuter A. (1999) Indexes for identification of abnormal tremor using computer tremor evaluation systems. *IEEE Trans Biomed Eng* **46(7)**:895-8.
224. Letz R, Gerr F. (1995) Standing steadiness measurements: empirical selection of testing protocol and outcome measures. *Neurotoxicol Teratol* **17(6)**:611-6.
225. Bell-Krotoski JA, Fess EE, Figarola JH, Hiltz D. (1995) Threshold detection and Semmes-Weinstein monofilaments. *J Hand Ther* **8(2)**:155-62.
226. Wolfinger RD, Chang M. (1995) Comparing the SAS GLM and MIXED Procedures for Repeated Measures. In: (eds), Twentieth Annual SAS Users Group Conference.
227. Gutmann L. (1996) Axonal channelopathies: an evolving concept in the pathogenesis of peripheral nerve disorders. *Neurology* **47(1)**:18-21.
228. Shinar D, Gross CR, Mohr JP, et al. (1985) Interobserver variability in the assessment of neurologic history and examination in the Stroke Data Bank. *Arch Neurol* **42(6)**:557-65.

229. Dewailly É, Ayotte P, Bruneau S, Lebel G, Levallois P, Weber JP. (2001) Exposure of the Inuit population of Nunavik (Arctic Québec) to lead and mercury. *Arch Environ Health* **56**(4):350-7.
230. Hallegraeff GM. (1993) A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* **32**(2):79-99.
231. Epstein P. (1998) Marine Ecosystem- Emerging disease as indicators of change. Report:NOAA's Office of Global Programs and NASA. Boston,85.
232. Hales S, de Wet N, Maindonald J, Woodward A. (2002) Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. *Lancet* **360**(9336):830-4.
233. Van Dolah FM, Richard JL. (1999) Advances in detection methods for fungal and algal toxins. *Nat Toxins* **7**(6):343-345.
234. Sierra-Beltran AP, Cruz A, Nunez E, Del Villar LM, Cerecero J, Ochoa JL. (1998) An overview of the marine food poisoning in Mexico. *Toxicon* **36**(11):1493-502.
235. Poli MA, Templeton CB, Thompson WL, Hewetson JF. (1990) Distribution and elimination of brevetoxin PbTx-3 in rats. *Toxicon* **28**(8):903-10.
236. Stommel EW, Watters MR. (2004) Marine Neurotoxins: Ingestible Toxins. *Curr Treat Options Neurol* **6**(2):105-114.



## **Appendice 1: Questionnaires**

Enquête épidémiologique  
**Rapport**  
 symptomatologie aiguë

#  
 0000000  
*Ne rien inscrire dans cette colonne*

Date de l'entrevue (jj/mm/aa): \_\_\_\_\_

Formation sanitaire:

Archipel : \_\_\_\_\_ Île : \_\_\_\_\_

Code  
 Code

Données socio-démographiques du patient

Nom : \_\_\_\_\_ Prénom : \_\_\_\_\_

Âge : \_\_\_\_\_ ans

Sexe : Masculin  Féminin

Appartenance ethnique :

- Européenne       Chinoise       Polynésienne  
 Métisse (demi) Précisez \_\_\_\_\_  Autre \_\_\_\_\_

/ \_ /  
 / \_ /  
 / \_ /

Adresse : \_\_\_\_\_

Île \_\_\_\_\_ Archipel \_\_\_\_\_

Téléphone \_\_\_\_\_

/ \_ /

**DONNEES CLINIQUES (symptomatologie aiguë)**

Symptômes ressentis par le patient lors de la consultation

/ \_ /

|                                     |                              |                              |       |
|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|
| Diarrhée                            | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Crampes abdominales                 | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | + _ + |
| Nausée                              | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | L _ L |
| Vomissements                        | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Engourdissement/ picotements Jambes | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Engourdissement/ picotements bras   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Engourdissement/ picotements lèvres | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | T _ T |
| Faiblesse/Jambes                    | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Faiblesse/bras                      | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | + _ + |
| Troubles au contact du froid        | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | / _ / |
| Douleurs musculaires                | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | L _ L |

/ \_ /

/ \_ /

/ \_ /

DONNEES CLINIQUES (symptomatologie aiguë) *suite*

|  |                              |                              |                      |
|--|------------------------------|------------------------------|----------------------|
| <b>Douleurs articulaires</b>                             | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Céphalées</b>   | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Douleurs dentaires</b>                                | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Goût métallique dans la bouche</b>                    | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Frissons</b>  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | T_T                  |
| <b>Sudation</b>  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | +_+                  |
| <b>Fièvre</b>  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Démangeaisons</b>                                     | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Vertige (avec sensation de rotation du corps)</b>     | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Instabilité (sans sensation de rotation du corps)</b> | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Manque de coordination</b>                            | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| Ex : Arrivez-vous à boutonner facilement votre chemise?  |                              |                              | 1_1                  |
| <b>Rigidité cervicale</b>                                | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | +_+                  |
| <b>Salivation</b>  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| <b>Difficulté respiratoire</b>                           | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | +_+                  |
| <b>Brûlure urinaire</b>                                  | <input type="checkbox"/> Oui | <input type="checkbox"/> Non | 1_1                  |
| Taille : _____ cm  |                              |                              | 1_1                  |
| Poids : _____ Kg   |                              |                              | 1_1                  |
| Fréquence respiratoire _____                             |                              |                              | 1_1                  |
| Pouls (/mn) : _____                                      |                              |                              | 1_1                  |
| Tension artérielle : _____                               |                              |                              | 1_1                  |
| <b>Diagnostic : Primaire</b>                             |                              |                              | <b>Total : / _ _</b> |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| <b>Secondaire</b> _____                                  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |
| _____  |                              |                              | 1_1                  |

### DONNÉES CLINIQUES *suite*

Traitement ( dose et durée): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Le patient a-t-il été hospitalisé :  Oui  Non

/\_/\_/

/\_/\_/\_/

### ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX

Le patient souffre t-il actuellement d'une des maladies chroniques citées ci-après?

- Diabète       Asthme  
 Lèpre         Anémie  
 Autre

Nombre d'intoxications antérieures de type ciguatera : \_\_\_\_\_

/\_/\_/

Demander au patient de préciser la date de ces épisodes?

| Ciguatera          | date              | Consultation médicale                                     | Hospitalisation   | Durée / d'hospitalisation |
|--------------------|-------------------|---|---|---------------------------|
| #1 <sup>er</sup>   | /_/_/ /_/_/ /_/_/ | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | _____ jours               |
| #2 <sup>nd</sup>   | /_/_/ /_/_/ /_/_/ | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | _____ jours               |
| #3 <sup>ème</sup>  | /_/_/ /_/_/ /_/_/ | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | _____ jours               |
| #4 <sup>ième</sup> | /_/_/ /_/_/ /_/_/ | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | /_/_/ jours               |
| #5 <sup>ème</sup>  | /_/_/ /_/_/ /_/_/ | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non | _____ jours               |

/\_/\_/

/\_/\_/

/\_/\_/

/\_/\_/

### ANTÉCÉDENTS MÉDICAUX suite

Si le patient n'a pas consulté un médecin (infirmier(ère)) quelle en est la raison ?

| Épisodes de Ciguatera | Réponse du patient<br><i>Je n'étais pas <u>assez</u> malade</i><br>Qu'entend le patient par <u>assez</u> malade? | Réponse du patient<br><i>Je me suis soigné(e) tout(e) seul(e).</i><br>Qu'a -t-il (elle) utilisé dans ce cas? | Réponse du patient<br><b>Autre</b> |
|-----------------------|--|--|------------------------------------|
| #1 <sup>er</sup>      | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> / _ /     |
| #2 <sup>nd</sup>      | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> / _ /     |
| #3 <sup>ième</sup>    | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> / _ /     |
| #4 <sup>ième</sup>    | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> / _ /     |
| #5 <sup>ième</sup>    | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/>   | <input type="checkbox"/> / _ /     |

### RAPPORT D'INTOXICATION

Nom local du poisson : \_\_\_\_\_

Quantité ingérée : \_\_\_\_\_ gramme

Consommation :  Filet  Tête  Viscère

Date et heure de consommation (jj/mm/aa)- 00h00 : \_\_/\_\_/\_\_/ à \_\_h\_\_

Lieu de pêche : Archipel : \_\_\_\_\_ Île : \_\_\_\_\_

Lieu précis : \_\_\_\_\_

Lieu d'achat : Archipel : \_\_\_\_\_ Île : \_\_\_\_\_

Nom du commerce -Poissonnerie, Restaurant-: \_\_\_\_\_

Nombre de personnes intoxiquées en plus du patient : \_\_\_\_\_

Pourriez-vous nous donner des précisions sur ces personnes?

| Nom de famille   | Prénom | Âge | Sexe  |
|--|--------|-----|-------|
|  |        |     | / _ / |
| A-t-il (elle) consulté(e) un médecin? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                                |        |     |       |
| Si <u>Non</u> pourquoi? <input type="checkbox"/> Vous ne savez pas <input type="checkbox"/> Il (elle) n'était pas assez malade |        |     |       |
|  |        |     |       |
| A-t-il (elle) consulté(e) un médecin? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                                |        |     | / _ / |
| Si <u>Non</u> pourquoi? <input type="checkbox"/> Vous ne savez pas <input type="checkbox"/> Il (elle) n'était pas assez malade |        |     | / _ / |

| RAPPORT D'INTOXICATION <i>suite</i>  |        |     |  |       |
|--|--------|-----|--|-------|
| Nom de famille   | Prénom | Âge |  | Sexe  |
| A-t-il (elle) consulté(e) un médecin? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                                |        |     |  | / _ / |
| Si <u>Non</u> pourquoi? <input type="checkbox"/> Vous ne savez pas <input type="checkbox"/> Il (elle) n'était pas assez malade |        |     |  |       |
|  |        |     |  | / _ / |
| A-t-il (elle) consulté(e) un médecin? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                                |        |     |  | / _ / |
| Si <u>Non</u> pourquoi? <input type="checkbox"/> Vous ne savez pas <input type="checkbox"/> Il (elle) n'était pas assez malade |        |     |  |       |
|  |        |     |  | / _ / |
| A-t-il (elle) consulté(e) un médecin? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                                |        |     |  | / _ / |
| Si <u>Non</u> pourquoi? <input type="checkbox"/> Vous ne savez pas <input type="checkbox"/> Il (elle) n'était pas assez malade |        |     |  |       |
|  |        |     |  | / _ / |
| <b>CONSOMMATION D'ALCOOL</b>   |        |     |  |       |
| Consommez-vous de l'alcool <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non   |        |     |  |       |
| Vous avez répondu non, car :   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Vous n'avez jamais pris d'alcool  |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Vous avez arrêté de prendre de l'alcool   |        |     |  |       |
| Depuis combien de temps                      mois  |        |     |  |       |
| (ou année)   |        |     |  |       |
| <b>CONSOMMATION DE TABAC</b>   |        |     |  |       |
| Fumez-vous la cigarette (tabac à rouler)? <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non                            |        |     |  |       |
| Vous avez répondu non, car :   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Vous n'avez jamais fumé   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Vous avez arrêté de fumer   |        |     |  |       |
| Depuis combien de temps                      _ _ / _   |        |     |  |       |
| _ / _ _ (jj/mm/aa)   |        |     |  |       |
| Combien de Cigarette (tabac à rouler) fumez-vous par jours?  |        |     |  |       |
| <b>ACTIVITÉ PHYSIQUE</b>   |        |     |  |       |
| Pratiquez-vous régulièrement (au moins une fois par semaine) un sport ?  |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non  |        |     |  |       |
| Si oui, combien de fois par semaine  |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> 1 à 2 fois <input type="checkbox"/> plus de 2 fois  |        |     |  |       |
| Si oui, lequel (ou lesquels)?:   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Danse <input type="checkbox"/> Rame   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Football <input type="checkbox"/> Plongée   |        |     |  |       |
| <input type="checkbox"/> Art martial <input type="checkbox"/> Autre  |        |     |  |       |

**Enquête épidémiologique**  
**Suivi I, II ou III**  
**symptomatologie chronique**

**IDENTIFICATION DU PATIENT**

Date de l'entrevue (jj/mm/aa): \_\_\_\_\_

Formation sanitaire:

Archipel : \_\_\_\_\_ Île : \_\_\_\_\_

**DONNEES CLINIQUES**

Pouls (/mn) : \_\_\_\_\_

Tension artérielle : \_\_\_\_\_

Poids : \_\_\_\_\_

**Au cours des 7 derniers jours avez-vous ressentis les symptômes suivant :**

|                                       |                                 |                            |                            |                               |  |
|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|--|
| Engourdissement/<br>picotement Jambes | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Engourdissement/<br>picotement bras   | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Engourdissement/<br>picotement lèvre  | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Faiblesse dans les jambes             | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Faiblesse dans les bras               | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Troubles au contact du froid          | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Douleurs musculaires                  | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Douleurs articulaires                 | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Céphalées                             | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Douleurs dentaires                    | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Bouffée de chaleur                    | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Démangeaisons                         | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| Brûlure urinaire                      | <input type="checkbox"/> jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |

**ÉPISODES INFECTIEUX**

Depuis votre épisode de ciguatera un médecin vous a-t-il dit que vous aviez:

- ORL?            combien de fois \_\_\_\_\_
- autre?            combien de fois \_\_\_\_\_

#  
0000000  
Ne rien  
inscrire  
dans  
cette  
colonne

code

code

/ \_ /

/ \_ /

/ \_ /

/ \_ /

/ \_ /

/ \_ / \_ / \_

### HABITUDE DE VIE

**Au cours des 7 derniers jours, combien de fois avez-vous consommé les aliments suivant:**

| Aliment  | Fréquence                       |                            |                            |                                |  |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| <b>Bœuf</b> (1 portion*)                         | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Poulet</b> (1 portion*)                       | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Porc</b> (1 portion*)                         | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Charcuterie</b> (1 portion*)                  | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Oeuf</b>                                      | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Fromage</b> (1 portion*)                      | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Lait</b> (1 verre)                            | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Yogourt</b>                                   | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Glace</b>                                     | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
| <b>Poisson</b> (1 portion*)<br>(donner les noms) | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |

|  |                                 |                            |                            |                                |  |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| <b>Fruits de Mer ou de Rivière</b> (1 portion*)<br>(donner les noms) | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|

|  |                                 |                            |                            |                                |  |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| <b>Noix et graines</b> (1 portion)<br>Mape, cacahuète, noix de cajou, pistache | <input type="checkbox"/> Jamais | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 à 4 | <input type="checkbox"/> $\geq 5$ fois |
|--|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|

**Au cours des 7 derniers jours avez-vous fait de l'activité physique?**

Oui                       Non

**Au cours de la dernière semaine (7 derniers jours)?**

**Combien de cannette de bière avez-vous bu?**

**Cannettes (333 ml)**

**Combien de verre de vin avez-vous bu?**

**Verres (110 ml)**

**Combien de ¼ verre de Whisky (ou autre alcool fort) avez-vous bu?**

**Verres (50ml)**

**Au cours des 7 derniers jours, avez-vous fumé?  Oui                       Non?**

**Si oui, combien de cigarette par jour?**

**Au cours des 7 derniers jours, avez-vous consommé de la drogue?**

Oui     Non?



## **Appendice 2:Grille d'évaluation neurologique**

| Tests  | Signes recherchés  |   |   | Anomalie  |
|--|--|---|---|---|
| <b>Test de Romberg (5 pas)</b><br>Avant- arrière (normal)  | <input type="checkbox"/> En ciseaux<br><input type="checkbox"/> En sautillant<br><input type="checkbox"/> Talonnante   | <input type="checkbox"/> Ébrieuse<br><input type="checkbox"/> Festinante<br><input type="checkbox"/> Dandinante | <input type="checkbox"/> En draguant<br><input type="checkbox"/> Spastique avec fauchage<br><input type="checkbox"/> Présence d'un steppage<br><input type="checkbox"/> Marche à petits pas | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non  |
| <b>Test de Romberg (5 pas)</b><br>Avant- arrière (yeux fermés)   | <input type="checkbox"/> En ciseaux<br><input type="checkbox"/> En sautillant<br><input type="checkbox"/> Talonnante   | <input type="checkbox"/> Ébrieuse<br><input type="checkbox"/> Festinante<br><input type="checkbox"/> Dandinante | <input type="checkbox"/> En draguant<br><input type="checkbox"/> Spastique avec fauchage<br><input type="checkbox"/> Présence d'un steppage<br><input type="checkbox"/> Marche à petits pas | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Test de Romberg (5 pas)</b><br>Sur la pointe des pieds  | <input type="checkbox"/> En ciseaux<br><input type="checkbox"/> En sautillant<br><input type="checkbox"/> Talonnante   | <input type="checkbox"/> Ébrieuse<br><input type="checkbox"/> Festinante<br><input type="checkbox"/> Dandinante | <input type="checkbox"/> En draguant<br><input type="checkbox"/> Spastique avec fauchage<br><input type="checkbox"/> Présence d'un steppage<br><input type="checkbox"/> Marche à petits pas | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Passivité-tonus</b><br>Apprécie par des mouvements de flexions passifs de la main (en tenant l'avant bras du patient)                     | <input type="checkbox"/> Accentuation des ballottements passifs<br><input type="checkbox"/> Diminution des ballottements passifs   |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Preuve du doigt-nez- oreille</b><br>Yeux ouverts<br>Yeux fermés   | <input type="checkbox"/> Dysmétrie<br><input type="checkbox"/> Dysmétrie (information sur la sensibilité kinétique)  |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Mouvement alternatif rapide</b>   | <input type="checkbox"/> Asymétrie<br><input type="checkbox"/> Dysharmonie   |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Tubes chaud et froid</b><br>Deux tubes remplis d'eau : chaud (40°C) et froid (8°C)  | <input type="checkbox"/> Erreur<br><input type="checkbox"/> Délai d'identification du tube (normal reconnaissance immédiate)   |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b><br><input type="checkbox"/> <b>délai</b> |
| <b>Épreuve pique-touche</b><br>Avec le manche d'un marteau à réflexes  | <input type="checkbox"/> Dysesthésie<br><input type="checkbox"/> Sensibilité douloureuse légère  |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Épreuve piqûre du tendon d'Achille épingle</b>  | <input type="checkbox"/> Douleur   |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |
| <b>Diapason</b><br>Sur le front (pour s'assurer d'une bonne identification du stimulus)<br>Malléoles externes<br>Crêtes tibiales et iliaques | <input type="checkbox"/> Perception vibratoire <input type="checkbox"/> Arrêt de la perception<br><input type="checkbox"/> Perception vibratoire <input type="checkbox"/> Arrêt de la perception |   |   | <input type="checkbox"/> <b>Oui</b><br><input type="checkbox"/> <b>Non</b>  |

| Tests  | Signes recherchés  | Anomalie   |
|--|--|--|
| <b>Nerf olfactif</b><br>Identification de substances odoriférantes (alcool, menthe, éther, parfum)   | <input type="checkbox"/> Perception olfactive  | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf Optique II</b> (après contrôle de l'acuité visuelle)<br>Champ visuel au doigt<br>Nasal, temporal, supérieur et inférieur                                       | <input type="checkbox"/> Hémianégligence visuelle  | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf Optique II</b><br>Disparition du clignement de l'œil à la menace   | <input type="checkbox"/> Hémianopsie   | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerfs oculomoteurs (III, IV, VI)</b>  | <input type="checkbox"/> Diplopie<br><input type="checkbox"/> Strabisme<br><input type="checkbox"/> Nystagmus  | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf trijumeau (V)</b><br>Percussion du menton à l'aide d'un marteau à réflexe<br>Effleurement de la cornéenne avec coton tige<br>Faire ouvrir la bouche au patient | <input type="checkbox"/> Réflexe massétérin<br><input type="checkbox"/> Réflexe cornéen<br><input type="checkbox"/> Asymétrie à l'ouverture de la bouche   | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf facial (VII)</b><br>a) Froncer le front, fermer les paupières, b) Montrer les dents; c) Faire la moue ou gonfler les joues                                     | <input type="checkbox"/> Paralysie de la mimique avec signes de Charles Bell   | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf cochléovestibulaire (VIII)</b>   | <input type="checkbox"/> Vertige rotatoire<br><input type="checkbox"/> Marche en étoile ( <i>information obtenue lors du test de test de Romberg</i> )   | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf glossopharyngien et nerf vague (IX et X)</b><br>Regarder la luette en demandant au patient de dire « A »   | <input type="checkbox"/> Paralysie de l'hémivoile<br><input type="checkbox"/> Trouble de la phonation<br><input type="checkbox"/> Abolition du réflexe nauséeux  | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Nerf spinal et nerf grand hypoglosse</b><br>Sterno-cléido-mastôïdien= rotation forcée controlatérale de la tête<br>Trapèze=haussement des épaules                   | <input type="checkbox"/> Paralysie du trapèze<br><input type="checkbox"/> Paralysie du sterno-cléido-mastôïdien<br><input type="checkbox"/> Paralysie unilatérale de la langue et déviation du côté paralysé   | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non   |
| <b>Réflexes ostéotendineux du membre supérieur G</b><br>Réflexe bicipital<br>Réflexe stylo-radial<br>Réflexe tricipital<br>Réflexe cubitopronateur                     | <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Aboli <input type="checkbox"/> Polycinétique <input type="checkbox"/> Clonus<br><input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Aboli <input type="checkbox"/> Polycinétique <input type="checkbox"/> Clonus<br><input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Aboli <input type="checkbox"/> Polycinétique <input type="checkbox"/> Clonus<br><input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Faible <input type="checkbox"/> Aboli <input type="checkbox"/> Polycinétique <input type="checkbox"/> Clonus | <input type="checkbox"/> Oui<br><input type="checkbox"/> Non<br><i>Réflexe pendulaire</i><br><input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non |



## **Appendice 3: Problèmes de santé en émergence associés aux toxines marines**

Auteur : Chateau-Degat ML

### **Résumé**

Les intoxications alimentaires découlant de l'ingestion de produits de la mer ne sont ni nouvelles ni rares. À l'heure de l'expansion des échanges commerciaux, de l'explosion du tourisme, on assiste à une mondialisation de problèmes qui étaient jusqu'alors endémique. Par ailleurs, la place prépondérante de l'écosystème marin dans la problématique de réchauffement climatiques positionne les efflorescences de toxines marines au centre des préoccupations des scientifiques.

L'objectif de cette revue est de faire un tour d'horizon des intoxications d'origines marines actuellement connues et aussi d'examiner le lien entre les différents facteurs environnementaux expliquant potentiellement l'émergence de ces intoxications.

Cet article rassemble ainsi diverses informations sur les origines et aspects toxicologiques des toxines marines ainsi que leurs effets sur la santé humaine .

Mot clés : Toxines marines, intoxications alimentaires, symptômes, océan, épidémiologie, poisson, mollusques.

## **Introduction**

De nombreuses populations à travers le monde dépendent de l'environnement marin. On estime à 60 % la proportion de la population mondiale qui vit le long des zones côtières; la plupart d'entre-elles dépendent de la mer pour assurer leur survie <sup>1</sup>. Cette relation intime qu'entretiennent les humains avec l'océan est particulièrement intense dans les régions méridionales telles que la région des Caraïbes. Le tourisme et l'industrie de la pêche représentent d'ailleurs la source principale de revenus pour quelques-unes des îles situées dans cette région. L'océan offre ainsi d'énormes bénéfices économiques et nutritionnels. De plus, il est largement admis que les produits de la mer offrent d'excellentes valeurs nutritionnelles dont les acides gras. Parmi leurs multiples effets, les acides gras <sup>2</sup> sont reconnus pour protéger des maladies cardiovasculaires et seraient nécessaires au développement du cerveau. De plus, les produits marins fournissent une part significative des protéines contenues dans la diète de plusieurs peuplades. Toutefois, il est aussi reconnu que plusieurs intoxications ayant trait à des produits d'origine marine sont contractées soit par simple contact avec l'eau de mer, soit par inhalation de substances aéroportées lors d'activités récréatives dans les zones côtières ou encore lors de la consommation de produits marins <sup>3,4</sup>.

Les maladies associées aux toxines marines sont loin d'être un phénomène récent puisqu'elles sont mentionnées dans la bible et dans d'autres écrits anciens<sup>5,6</sup>. Pendant longtemps, les effets nocifs sur la santé associés à la consommation de produit marins représentaient un problème localisé à l'état endémique. Cependant, avec le déplacement des populations vers les zones côtières, les facteurs de risque d'empoisonnement par les ressources marines se sont accrus dans plusieurs communautés <sup>7</sup>. L'expansion des échanges commerciaux entre le Nord et le sud dans le domaine des pêcheries et l'avènement du tourisme ont contribué, de plus, à la globalisation du phénomène. La littérature scientifique rapporte nombre d'exemples

d'empoisonnements par les produits de la mer. Telle la consommation de poissons tropicaux, révélateurs de l'extension aux régions du nord d'une problématique qui jusqu'ici était circonscrite aux zones tropicales (De Haro *et al.*, 199 ;Van Dolah, 2000; Clark, 1999; National Research Council, 1999; Morris, 1999]. Au Québec, la plus récente épidémie de ciguatera (intoxication due à l'ingestion de poisson ayant accumulé les toxines de microorganismes marins) est survenue au sein d'une famille montréalaise <sup>8</sup> au cours de l'été 1998 à la suite de l'ingestion de barracuda acheté dans une ville canadienne. Ce type d'incident nous amène à penser que le Canada sera probablement de plus en plus confronté à ce type d'intoxication et laisse planer la possibilité d'un bannissement de certains poissons tropicaux ce qui aurait un impact économique majeur pour certaines régions exportatrices comme les Caraïbes <sup>9,10</sup>.

Même si les impacts économiques associés aux produits marins impropres à la consommation n'ont pas été quantifiés avec précision, Epstein (1996) identifie six coûts différents imputé à la présence de toxines marines : 1. le coût de la maladie; 2. le coût de la surveillance des zones à risque ; 3. la perte des ventes; 4. la perte d'un marché à long terme; 5. la perte d'une source alimentaire et finalement, 6. des atteintes au tourisme et aux activités récréatives <sup>11</sup>. Dans une publication récente, Shuval a estimé à 4 milliards de dollars US par année, à l'échelle mondiale, les coûts rattachés à la gestion des maladies associées au milieu marin <sup>12</sup>. Ces coûts sont d'autant plus exorbitants pour des petites îles tropicales telles que les Caraïbes qui dépendent de l'écosystème marin pour assurer leur développement économique.

En somme, il apparaît très clairement que la salubrité des produits marins devient un enjeu de santé publique à l'échelle internationale et non plus seulement au niveau local.

Les humains ne sont pas les seuls à être menacés par les toxines marines. Les poissons, les oiseaux, les mammifères marins sont également sensibles à ces toxines <sup>13-15</sup>. Plusieurs épisodes de morbidité et de mortalités de poissons sont survenues à

travers le monde dans plusieurs régions côtières, lesquels ont occasionnés des conséquences directes sur la santé et la nutrition des populations <sup>16</sup>.

Ce texte fait la recension des problèmes de santé en émergence qui sont associés aux toxines marines et aux microorganismes marins nuisibles, en particulier ceux d'ici et des latitudes de villégiatures prisées des Québécois, les Caraïbes par exemple. Ces quelques lignes mettront également l'accent sur certains facteurs reconnus pour leurs implications dans la résurgence des troubles associées aux toxines marines.

### **Aujourd'hui, les bio toxines présentes dans l'environnement marin**

La mer constitue un réservoir naturel pour les microorganismes potentiellement pathogènes pour l'humain et les poissons. La majorité des microorganismes nuisibles vivent sur des algues avec lesquelles ils établissent une relation symbiotique ou simplement épiphytique. Quelques-uns de ces organismes font partie du genre dinoflagellés. Les dinoflagellés sont classés sous le phylum protozoaire et à l'intérieur de la classe des phytomastigophora. On les retrouve principalement dans les océans. Ils se caractérisent par la présence d'un flagelle transversal et longitudinal qui leurs permettent de se propulser dans l'eau de façon rotatoire <sup>17</sup>. Les microorganismes produisent naturellement les bio toxines et des recherches ont permis d'élucider la structure chimique et la pharmacologie de quelques-unes de ces toxines mais, il reste encore beaucoup d'inconnu. Il est ainsi possible de retrouver d'excellentes publications sur le sujet, en particulier celles Baden *et al.* 1995, lesquels dressent un portrait complet des toxines marines connues jusqu'à présent. Néanmoins, les raisons physiologiques expliquant la production de telles substances sont encore mal comprises. Quelques auteurs émettent cependant l'hypothèse que cette production serait due à un système de défense chimique <sup>18,19</sup>.



Parmi les 2 000 espèces connues de dinoflagellés, 20 espèces seulement ont été impliquées dans des intoxications aux fruits de mer <sup>20</sup>. Jusqu'à maintenant, neuf groupes différents de toxines et autres molécules ont été décrites <sup>18</sup>. Ces toxines ont pour caractéristiques communes d'être des substances parmi les plus toxiques produites par des organismes vivants puisqu'elles sont toxiques dès la nanomole <sup>21</sup>. Un autre trait commun est la rapidité avec laquelle les symptômes apparaissent à la suite d'exposition. Pour la plupart des toxines en effet, le laps de temps entre l'exposition et l'apparition des symptômes est très court allant de la minute à quelques heures. De plus, les toxines marines présentes dans les poissons ou les fruits de mer n'en affectent habituellement ni l'odeur ni le goût. Les humains ne sont d'aucun recours pour reconnaître la toxicité de ces aliments <sup>9</sup>. Finalement, la plupart des toxines produites par les organismes marins agissent sur les cellules nerveuses et particulièrement au niveau de leurs membranes. Les toxines marines les plus connues et présentées ici sont les brévéttoxines, les ciguatoxines, l'acide domoïque, l'acide okadaïque, la saxitoxine et la tétrodotoxine. L'histamine ne sera pas traitée dans cette section puisqu'elle ne se retrouve pas dans le milieu marin en tant que telle mais apparaît lors de la conservation du poisson. Cependant, la pathologie associée à cette molécule sera présentée dans la section suivante en raison de l'incidence de cette intoxication qui ne peut être négligée.

Le tableau suivant résume les principales informations toxicologiques des toxines marines, les organismes qui les produisent, la distribution géographique, le taux de mortalité associé à ces intoxications et enfin les symptômes observés chez l'humain.

### **Acide domoïque**

L'acide domoïque est une substance excitatrice de l'acide aminé dicarboxylique qui rivalise pour les récepteurs au glutamate dans le système nerveux central <sup>22</sup>. Sept congénères de cette molécule sont actuellement identifiés <sup>23</sup>. Cette toxine agit comme une molécule neuroexcitatrice, le kaïnate et produit la nécrose des cellules neuronales

de l'hippocampe, en particulier dans les régions du CA1 et du CA3. La neurotoxicité de cette substance résulte de l'accroissement du calcium intracellulaire à des niveaux toxiques conduisant à la mort neuronale<sup>24,23</sup>. Cette toxine démontre une affinité pour les récepteurs vingt fois plus grande que les neuromodulateurs normaux<sup>22</sup>. Elle est produite par des diatomées du type *Pseudonitzschia multiseries* ou encore des algues rouges de type *Chondria*. L'acide domoïque produit se bioaccumule dans les fruits de mer mais a également été détecté dans la chair de hareng<sup>25-28</sup>.

### **Acide okadaïque**

L'acide okadaïque et ses dérivés font partie de la classe des acides connus sous le nom de polyéthers lipophiliques<sup>23</sup>. Ces toxines sont produites en premier lieu par des dinoflagellés du genre *Dinophysis spp.* ou *Prorocentrum spp.* *Prorocentrum lima*, le plus connu au Canada, est un dinoflagellé cosmopolite dont la distribution s'étend des eaux tempérées aux récifs de corail. Ceci explique en partie l'étendue de la distribution de cette intoxication.

Ces toxines agissent sur les muscles lisses en modifiant la protéine de phosphorylation qui induit la contraction musculaire. Elles ont un effet sur les organismes vivants dès qu'elles atteignent les concentrations de 200 à 500 microgrammes par poids corporel<sup>22</sup>. Les polyéthers semblables à l'acide okadaïque font partie des toxines marines les moins dangereuses. Cependant, ces substances ont été identifiées comme promoteur potentiel de la présence et la croissance de tumeurs<sup>29</sup>.

### **Brévéttoxine**

Les brévéttoxines sont des polyéthers cycliques produites par un dinoflagellé *Gymnodinium breve* dont les marées rouges très caractéristiques formées par son efflorescence sont devenues l'emblème des algues toxiques nuisibles. Les

brevétoxines (BTX) agissent sur le système nerveux central et périphérique<sup>30</sup>. Elles se lient au récepteur orphelin S5 localisé sur la sous-unité  $\alpha$  des canaux sodiques voltage dépendant<sup>31-33</sup>. Les BTXs ouvrent le canal à sa valeur de potentiel de repos normal, ralentissent et retardent l'inactivation normale des canaux, ce qui résulte souvent en une libération répétitive de neurotransmetteurs par le neurone<sup>22</sup>. Les BTX déplacent la valeur du potentiel d'activation vers les valeurs plus négatives, elles prolongent également le temps d'ouverture des canaux et induisent une inhibition de l'inactivation du canal sodique. Finalement, ces toxines induisent un état de subconductance<sup>22</sup>. Les effets neurologiques aigus périphériques et centraux observés *in vivo* ont été attribués aux précédentes actions des BTX au niveau cellulaire<sup>34</sup>.

Quelques dérivés de la brévéttoxine sont bien connus. La nomenclature couramment utilisée pour définir cette molécule est le sigle « BTX » suivi, d'un nombre arabe qui spécifie le type de molécule dérivée (*e.g.* BTX1, BTX2, BTX3, etc.). Des analyses de BTX2 sont régulièrement réalisées lorsque des toxines marines semblent être impliquées lors d'intoxications. Néanmoins, de récents événements indiquent que ces analyses devraient être étendues aux autres dérivés des BTX tel que les BTX3<sup>35</sup>. Le principal problème repose sur le fait que les analyses de routine réalisées pour la détection de la BTX2 ne sont pas assez sensibles pour les autres molécules dérivées, ce qui a une implication majeure dans le domaine de la sécurité et la réglementation<sup>36</sup>. À ce jour, les maladies associées à la brévéttoxine sont surtout rapportées dans les régions côtières de la Floride et dans les Caraïbes<sup>36,9</sup>.

### **Saxitoxine**

Les saxitoxines sont produites par plusieurs espèces de dinoflagellés tels que *Alexandrium spp*, *Gymnodinium spp* et *Pyrodinium spp*<sup>37</sup>. Environ 20 espèces de dinoflagellés ont été impliquées dans la production de l'alcaloïde toxique, la saxitoxine responsable des **IPFM**. Ces toxines, synthétisées par les espèces gonyaulax, s'accumulent chez certains mollusques, comme les moules, les clams, les

huîtres et les coquilles St-Jacques, sans qu'aucun effet toxique n'ait été observé chez ces organismes ou chez les poissons qui les consomment.

Vingt et un congénères de la saxitoxine d'origine ont été identifiés jusqu'à maintenant. Ces souches toxicogéniques ont été isolées à partir d'un certain nombre d'organismes marins tel que des dinoflagellés, des macroalgues, des crabes, des poissons et des urochordés<sup>19</sup>. Ils diffèrent de la molécule d'origine par la substitution d'atomes d'hydrogène par d'autres groupes chimiques tels que les groupes hydroxyle ou sulfidryle dans des sites spécifiques (R1, R2, R3 et R4) de la molécule d'origine. Selon Baden *et al.* (1995), ces substitutions ou remplacements ont des effets considérables sur la toxicité. Tous les congénères de saxitoxine agissent sur les cellules neurales en bloquant l'activité des canaux sodiques membranaires. Généralement, la production de saxitoxine survient dans des eaux tempérées plutôt que dans les eaux tropicales. Toutefois, au cours des trois dernières décennies, de nombreuses épidémies ont été rapportées dans l'hémisphère sud<sup>9</sup>. Quelques auteurs, dont Van Dolah, suggèrent que cette expansion serait causée par les changements climatiques et l'introduction de dinoflagellés par le transport maritime<sup>23</sup>. Au Canada et aux États-Unis, Santé Canada et son corollaire états-uniens tiennent sous haute surveillance de nombreuses zones de cueillettes, et ferment ces zones quand le niveau de toxine dans les fruits de mer excèdent 80 µg/ 100 g d'équivalent STX<sup>38,6</sup>.

### **Térodotoxine**

La térodotoxine est une neurotoxine puissante produite par quatre souches différentes de bactéries : *vibrio fischeri*, *Pseudomonas spp*, *vibrio altermonas* et *vibrio alginolyticus*. Chez le poisson, la térodotoxine se concentre dans le foie, les viscères et les gonades. Les poissons femelles sont considérés plus toxiques que les mâles puisqu'elles ont des concentrations élevées de toxines au niveau des ovaires<sup>39</sup>. Comme c'était le cas pour la saxitoxine, les térodotoxine inhibent l'activité des canaux sodiques durant la phase ascendante du potentiel d'action<sup>39</sup>. Ces toxines

modulent l'allostérie des pores transmembranaires en se liant à des sites spécifiques des récepteurs orphelins <sup>22</sup>. Le groupe des tétrotoxines se compose de sept dérivés provenant d'une variété de souches bactériennes marines et terrestres <sup>22</sup>.

## **Ciguatoxine**

La ciguatoxine est une neurotoxine liposoluble, stable à la chaleur, qui n'est ni dégradée à l'acide, ni éliminée par séchage, salage, ou fumage <sup>40-42</sup>. Cette toxine est produite par le dinoflagellé de genre *Gambierdiscus spp.* Toutefois, il a été montré que plusieurs espèces pouvaient produire des ciguatoxines incluant les membres du genre *Prorocentrum spp.*, *Ostreopsis spp.*, *Coolia monotis*, *Thecadinuim sp* et *Amprodinuim carterae* <sup>43,44,18</sup>. Le bacille gram-négatif, isolé des poissons atteint de ciguatera, a montré la capacité de produire des toxines semblables à la ciguatera <sup>45</sup>. La ciguatoxine induit une dépolarisation de la membrane dans les tissus nerveux et musculaires en ouvrant les canaux sodium voltage dépendant <sup>44,21,46,47,32</sup>. Les ciguatoxines et les brévatoxines se lient sur le même récepteur, mais la ciguatoxine semble être plus puissante que la brévatoxine surtout en terme d'affinités avec les canaux sodiques <sup>47</sup>. Les différences entre ces toxines peuvent être reliées aux différences de bio-disponibilité de la ciguatoxine ou peut-être à des effets toxiques inconnus de la ciguatoxine. Jusqu'ici, un certain nombre de dérivés différents de la ciguatoxine ont été identifiés. Vernoux et Lewis ont récemment suggéré une nomenclature normalisée pour les ciguatoxines <sup>48</sup>. Suite à l'abréviation CTX, un code de lettres, est utilisé pour indiquer la source (P= Océan Pacifique, A= Océan Atlantique, C= Caraïbes; I=Ocean indien) alors qu'un nombre est indiqué l'ordre chronologique pour identifier les composés. Le groupe des ciguatoxines comprend tous les dérivés de ciguatoxines et autres toxines avec différents noms mais qui ont la même action que la molécule de ciguatoxine d'origine <sup>18,49,46,48</sup>.

## **A chaque bio toxine marine son intoxication !**

Les intoxications causées par l'ingestion de fruits de mer ou de poissons contaminés par des toxines, dites marines, peuvent être définies par sept maladies différentes incluant; l'intoxication amnésique par les fruits de mer (IAFM), l'intoxication diarrhéique par les fruits de mer (IDFM), l'intoxication neurologique par les fruits de mer (INFM), l'intoxication paralysante par les fruits de mer (IPFM), l'intoxication à l'histamine, la ciguatera, intoxication à la tétrédotoxine (TTX) et le syndrome associé aux *Pfiesteria*. Au Québec, les intoxications les plus souvent rapportées sont de type IPFM alors que dans les Caraïbes, la ciguatera se place au premier rang.

### **Intoxication amnésiques par les fruits de mer (IAFM)**

Tel que son nom l'indique, la spécificité de cette maladie est de produire une amnésie transitoire, des vertiges, une désorientation, un état léthargique et des convulsions chez certain patients. Parmi les symptômes de l'IAFM on retrouve également toute la panoplie des troubles gastro-intestinaux incluant la nausée, des vomissements et la diarrhée. Ces symptômes apparaissent environ 24 heures après l'ingestion du mollusque contaminé. Les symptômes neurologiques débutent par des pertes de mémoire qui apparaissent 48 heures après la consommation. Le type de mémoire affecté par cette intoxication est de type antérograde et il a été démontré que les autres types de mémoire restaient intactes<sup>39</sup>. Toutes ces altérations sont causées par l'action de l'acide domoïque. Plusieurs épidémies ont été recensées dans l'est du Canada et le long de la côte nord-est du pacifique. Les autorités canadiennes recherchent maintenant l'acide domoïque dans les moules et les clams, et ferment les sites de cueillettes lorsque les niveaux de cette substance excèdent 20 µg par gramme de chair de mollusque<sup>50,6</sup>

Comme la plupart des intoxications alimentaires d'origine marine, aucun traitement spécifique n'existe pour l'*IAFM*. Le seul traitement disponible est uniquement palliatif. Toutefois des études suggèrent que les benzodiazépines supporterait

l'activité hippocampique et contrôlerait les convulsions dans de telles intoxications  
51,49

### **Intoxication Diarrhéiques par les fruits de mer (IDM)**

L'ingestion de fruits de mer contaminé par de l'acide okadaïque provoque de sévères troubles gastro-intestinaux chez l'homme. Dans les cas les plus légers, nausées, vomissements, diarrhées et crampes abdominales sont assez communs et se dissipent dans les 2 à 3 jours. Dans les cas les plus sévères, on rapporte des vertiges, des hallucinations, des états de confusion, des pertes de mémoires à court terme ainsi que des convulsions. Certains auteurs disent que cette intoxication est très largement sous déclarée en raison de son caractère bénin. Fait intéressant, depuis la dernière épidémie rapportée en 1987, aucun autre rapport de cette maladie n'apparaît dans la littérature. Or, les diatomées qui produisent ces toxines sont retrouvées aux abords de plusieurs continents du globe tels que l'Europe, l'Asie, l'Australie et également en Amérique du nord<sup>35,52</sup>.

### **Intoxication neurologique par les fruits de mer (INFM)**

À part la ciguatera, l'INFM est l'intoxication la plus commune dans les Caraïbes<sup>53</sup>. La toxine responsable de cette intoxication, la brevétoxine, est produite par *Gymnodinium breve*. Sous forme aéroportée, les brevétoxines peuvent être dangereuses pour l'humain. Par l'action du ressac, les cellules de *Gymnodinium breve* se rompent et libèrent les molécules toxiques dans l'environnement. Sous cette forme, les brevétoxines provoquent des irritations et des brûlures des voies respiratoires<sup>35</sup>. L'intoxication par ingestion produit d'autres troubles neurologiques tels que de la paresthésie, des vertiges et de l'ataxie. Cette toxine provoque également des perturbations gastro-intestinales telles que des diarrhées, des nausées et, des vomissements, mais tous ces symptômes se résolvent rapidement.

### **Intoxication paralysante par les fruits de mer (IPFM)**

Les saxitoxines ont un fort pouvoir toxique neuromusculaire et dans les cas d'intoxication les plus extrêmes, il a été possible d'observer des paralysies musculaires, des difficultés respiratoires entraînant parfois la mort. Dans les cas d'intoxication courante, symptômes neurologiques peuvent persister pendant près de deux semaines, mais rarement plus longtemps. Les signes cliniques initiaux des IPFM sont de nature gastro-intestinale et apparaissent dans les 30 à 60 minutes après l'ingestion. D'autres symptômes, comme des perturbations de la sensibilité du visage peuvent également être observées, les effets paralysants leurs succèdent. Le taux de mortalité pour cette maladie varie de 8 à 10 %<sup>7</sup> et chaque année, 2000 cas d'intoxications sont recensés dans le monde<sup>23</sup>. L'IPFM est mondialement rapportée avec cependant une concentration des cas dans les zones tempérées. Généralement, ces intoxications sont associées à la cueillette récréative. En 1996, le plus fort taux d'IPFM dans le monde a été recensée en Chine. La Chine est actuellement connue pour sa recrudescence de marées rouges qui provoquent 40 à 50 épisodes d'IPFM par année<sup>54</sup>. Ce fort taux est principalement dû au système de surveillance très faible dans cette région<sup>6</sup>. Dans les régions tropicales, *Pyrodinium bahamense var compressa* a été associé à des cas d'IPFM<sup>55</sup>. Une étude récente indique que les saxitoxines sont également retrouvées dans les poisson-lune tropicaux retrouvés tant dans les eaux douces que marines des Philippines<sup>56</sup>. Aucun antidote des saxitoxines n'est actuellement disponible, seul des traitements palliatifs en support spécifique du système respiratoire sont utilisés, c'est pourquoi la prévention de ce type d'intoxication est si importante<sup>39</sup>

### **Les intoxications à l'histamine**

Les intoxications à l'histamine sont des intoxications que l'on qualifie de «chimique». Cette intoxication découle de l'ingestion de produits d'origine marine mal conservés (*i.e.* congélation inadéquate, rupture de la chaînes du froid, etc.). La



conservation inadéquate des produits d'origine marine provoque la croissance de bactéries qui convertissent l'histidine en histamine par un processus de décarboxylation. Les poissons associés à ce type d'intoxication sont généralement des poissons du large comme le thon, le maquereau, le mahi-mahi ou encore les bonites. Le poisson ainsi contaminé a généralement un goût poivré caractéristique. Ce type d'intoxication est très souvent rapporté aux Etats-Unis <sup>39</sup>. L'histamine n'est pas toxique pour l'homme puisqu'elle est rapidement inactivée par les enzymes gastriques. C'est pourquoi Wu *et al.*, (1997) suggèrent que d'autres substances doivent coexister et exacerber l'action de l'histamine induisant les manifestations de cette maladie <sup>57</sup>. Les symptômes cliniques ressemblent au tableau clinique d'une intoxication histaminique classique dans les cas d'allergies et incluent des maux de tête, des érythèmes, des nausées, des vomissements, des diarrhées ainsi que des crampes abdominales. Ces symptômes peuvent être contrôlés par l'administration d'antagoniste de l'histamine (1 ou 2) comme la diphenhydramine <sup>39</sup>. Il n'y a pas de rapport particulier concernant la distribution de cette intoxication puisqu'elle est contextuelle et non relié à des caractéristiques climatiques ou géographiques particulières.

### **Tétrodotoxine (TTX)**

L'apparition des symptômes cliniques est en général très rapide moins de 30 minutes après l'ingestion et dans les cas extrêmes, la mort a été observé 17 minutes après la consommation. Suite à l'ingestion, certains individus peuvent ressentir des vomissements, des crampes abdominales et des symptômes neurologiques comme de la paresthésie autour des lèvres et au niveau de la langue <sup>39</sup>. Le traitement de cette intoxication est purement palliatif incluant de la ventilation assistée et des perfusions d'atropine.

### **Syndrome associé aux *Pfiesteria***

Jusqu'à présent, seul deux incidents de cette maladie ont été recensés. La connaissance de ce syndrome est donc exclusivement basée sur ces deux événements<sup>58,59</sup>. Les symptômes recensés sont principalement cognitifs et gastro-intestinaux<sup>60,6</sup>. Les effets délétères ressentis par les personnes exposées à *pfiesteria* incluaient des changements de personnalité, des difficultés de concentration, d'apprentissage et des pertes de mémoire. Parmi ces cas, des troubles respiratoires, des irritations des yeux et de la gorge et des prurits ont également été observés<sup>58</sup>. Le diagnostic est essentiellement basé sur la présentation clinique et résulte des tests neurologiques<sup>6</sup>. Les méthodes de détection de cet organisme dans l'environnement sont en développement avec des techniques de réaction en chaîne multiplex par exemple qui promettent des résultats rapides, sensibles et spécifiques de *pfiesteria*. Jusqu'ici, l'épidémiologie de ce syndrome est peu comprise<sup>60,6</sup> et plusieurs questions restent encore en suspens, telle l'identification exacte des risques pour la santé humaine. Selon Steidinger & Bulkhoder, en 1996, deux toxines majeures semblent être produites par *pfiesteria*, cependant ces toxines doivent encore être caractérisées<sup>60</sup>.

### **Ciguatera**

Le terme « ciguatera » dérive du mot espagnol « cigua » dénommant un escargot marin trouvé dans les Caraïbes<sup>61</sup>. Par ce terme, on identifie une myriade de symptômes observés chez des personnes ayant ingéré des poissons tropicaux ou semi-tropicaux intoxiqués par les ciguatoxines<sup>62,63</sup>. L'apparition de cette maladie est assez difficile à prévoir puisqu'elle est de nature sporadique et locale. Plus de 400 espèces de poisson ont été identifiées comme vecteurs potentiels mais seulement quelques espèces ont été réellement impliquées dans des cas d'empoisonnement de type ciguatera. En terme d'identification et d'administration du risque, le problème est multiple, 1-les poissons ciguatoxiques ne sont pas sédentaires. 2- Ils sont difficilement reconnaissables puisque inodore, incolore, sans signature gustative

particulières. 3- aucun test fiable n'est actuellement disponible. Jusqu'à maintenant, seul un kit existe pour juger du potentiel toxique d'un poisson <sup>64</sup>. Ce test commercialisé a une bonne sensibilité mais une spécificité assez mauvaise <sup>6</sup>. Ainsi, il est important de développer un test spécifique des CTXs avant que le poisson soit consommé afin d'améliorer la prise en charge de cette intoxication <sup>65</sup>. À la lumière des connaissances actuellement recueillies sur cette intoxication les autorités sanitaires recommandent de réfréner la consommation de certains poissons carnivores et ne manger ni la tête ni les viscères des poissons récifaux. Plus généralement, ils recommandent de ne pas manger de poisson dont le poids excède 1,5Kg <sup>66</sup>

Dans les Caraïbes, les poissons les plus souvent incriminés par cette intoxication sont les murènes grises (*Gymnothorax nubilus*), les perches noires (*Apsilus dentatus*), les loches noires (*Mycteroperca bonaci*), les loches tigrées (*Mycteroperca tigris*), les grands barracudas (*Sphyræna barracuda*), les grandes caranges (*Seriola dumerili*), les labres (*Lachnolaimus maximus*), et les loches à nageoires jaunes (*Mycteroperca venenosa*) <sup>67,68,61</sup>.

Le processus d'intoxication de cette maladie est assez bien connu. Les CTX sont produites par des dinoflagellés puis s'accumulent à travers la chaîne alimentaire depuis les poissons boteurs d'algues aux poissons carnivores et finalement les humains.

La symptomatologie clinique de la ciguatera est de nature gastro-intestinale et neurologique (cf Tableau). Les troubles neurologiques incluent des douleurs articulaires et de la faiblesse dans les membres inférieurs et supérieurs, symptomatologie très caractéristique de la ciguatera que l'on pourrait qualifier de caraïbienne <sup>69,70</sup>. Les symptômes aigus sont polymorphiques et se développent habituellement entre 2 et 12h après l'ingestion du poisson contaminé <sup>71</sup>. La ciguatera est rarement fatale (<1%) <sup>35,12</sup> mais après une manifestation aiguë de la maladie, certains patients ressentent des symptômes qui peuvent persister pendant des mois

<sup>72,73</sup>. A l'heure actuelle, on constate que la symptomatologie chronique de cette intoxication est très largement ignorée dans la littérature, cela tient certainement à l'inexpérience du personnel de santé en regard à ces troubles subtils et persistants mais également au manque de tests diagnostics chez l'humain <sup>74,72,46,7</sup>. Cependant, la persistance des symptômes neurologiques rapportés peut être expliquée par l'intervention du système auto-immun ou d'une l'action directe sur les neurones <sup>75</sup>. La récurrence de cette maladie a été associée avec plusieurs facteurs comme la consommation de poisson, la consommation d'alcool, l'activité physique ou les relations sexuelles <sup>68,71,46,75,76,6</sup>. L'hypothèse proposée mais non confirmée à ce jour est que les ciguatoxins seraient stockées dans les tissus adipeux et libérées dans la circulation sanguine lors d'un effort physique. Une des caractéristiques distinctives de la ciguatera est que cette intoxication ne confère pas d'immunité à celui qui la contracte. Au contraire, il semble que les individus soient plus sensibles au second épisode qu'au premier.

L'incidence de la ciguatera dans le Pacifique sud avoisine les 500 cas pour 100 000 par personne année<sup>-1</sup> (Donnée du secrétariat de la commission du Pacifique sud) <sup>77</sup>. La ciguatera est une cause de morbidité significative dans les Caraïbes, le sud de la Floride, à Hawaii et en Australie <sup>78,68,79</sup>. Bourdeau et Bagnis ont estimé ce taux de morbidité dans les îles française des Caraïbes entre 7 à 30 pour mille vers la fin des années in 80<sup>66</sup>.

Jusqu'à maintenant, le mannitol reste le meilleur traitement de cette intoxication <sup>74</sup>. Mannitol diminue la morbidité aiguë et semble efficace dans le traitement de la symptomatologie aiguë avec une efficacité identique entre les deux sexes <sup>74</sup>.

## Facteurs environnementaux

Nombre de facteurs environnementaux ont été associés à l'augmentation des efflorescences d'algues et des maladies et syndromes qui s'y rattachent durant les trois dernières décennies<sup>43,80</sup>. Ces facteurs environnementaux incluent les changements climatiques globaux induisant une modification dans la température des eaux marines, la salinité, les concentrations en nutriments, les rayonnements solaires, les concentrations en éléments chimiques<sup>81,82</sup>. Certains auteurs avancent que les changements dans l'écosystème marin est principalement dû à des actions anthropogéniques telles 1- l'enrichissement en nutriment par les déversements des eaux souillées, 2- le dragage des récifs dans le cadre d'aménagements côtier, 3- l'importation de nouvelles espèces d'algues transportées à l'état de kystes dans les ballastes des bateaux<sup>83,11,53,9</sup>.

Les microorganismes, tel les dinoflagellés, dépendent de la température, la salinité, turbidité, la lumière, l'oxygène, pour avoir une croissance dite optimale<sup>84,85,18,86,82</sup>. Cette sensibilité inscrit fermement les efflorescences d'algues nuisibles dans la problématique du réchauffement climatique. En effet, certains auteurs associent les instabilités climatiques, telle que les événements El Niño (de ces dernières années), avec des perturbations de la vie marine, telle que le blanchiment étendu du corail observé dans les Caraïbes à la fin des années 1990<sup>11</sup>. Pour ces auteurs comme Hales *et al.* (2000), les intoxications d'origine marine tendent à être reliées aux événements El Niño<sup>87</sup>. Tous ces stressés, fluctuations en nutriments, diminutions de prédateurs, pertes de filtre naturel, réchauffement et climats extrêmes, introductions de nouvelles espèces dans des zones naturellement exemptes peuvent contribuer à l'augmentation, en terme de fréquence, magnitude et persistance des efflorescences d'algues nuisibles<sup>88,80</sup>.

Cependant, il est important de bien comprendre que l'augmentation des rapports d'efflorescence observés ces dernières années peut refléter une augmentation réelle ou

simplement être représentatif d'une meilleure détection de ces évènements. Cette remarque proposée récemment par Morris (1999) et Van Dolha en 2000 peut être également appliquées aux intoxications alimentaires. En effet, pour la plupart des intoxications , il est difficile d'évaluer si le nombre d'intoxication est en constante croissance, en décroissance ou s'il reste stable puisque la plupart d'entre elle reste relativement sous rapportée et ce, pour diverses raisons <sup>7,12</sup>. Cependant, grâce à l'intérêt grandissant pour l'interrelation entre l'état de l'écosystème marins et de la santé humaine est il est fort probable que la prochaine décennie permettra de répondre à ce questionnement.

**Tableau: Synthèse de l'information concernant les maladies induites par l'exposition aux toxines marines**

| Type d'intoxication                                    | Toxine (nombre de molécules dérivées)                              | Dose toxique DL <sub>50</sub> (IP souri µg/Kg)  | Organisme  | Vecteur                          | Distribution géographique                   | Taux de mortalité | Principaux symptômes                          |
|--|--|---|--|----------------------------------|---|-------------------|---|
| Intoxication Amnésique par les Fruits de Mer (IAFM)    | Acide domoïque (7)   | 120 µg/Kg<br><b>DL<sub>50</sub> chez l'humain :</b><br>1-5 mg/Kg                      | Diatomées<br>Pseudo-Nitzschia multiseriis        | Fruits de mer                    | Canada<br>États-Unis                        | 3 %               | aiguës : N, v, d, a, p, r<br>chroniques : a   |
| Intoxication Diarrhéique par les Fruits de Mer (IDFM)  | Acide okadaïque<br>Dinophysitoxine<br>Pectenotoxine<br>Yessotoxine | 192 µg/Kg<br><b>Étendue:</b> 200-700 selon les toxines dérivées considérées           | Prorocentrum<br>Lima<br>Dinophysis fortii        | Fruits de mer                    | Japon, Europe,<br>Golfe du Mexique          | 0 %               | aiguës : d, n, v<br>chroniques : N R          |
| Intoxication Neurologique par les Fruits de Mer (INFM) | Brevétoxine  | 100-200 µg/Kg<br><b>DL<sub>50</sub> chez l'humain:</b> 1-4 mg eqv                     | Gymnodinium breve                                | Fruits de mer                    | Floride, Golfe du Mexique, Nouvelle-Zélande | 0 %               | aiguës : N, v, d, b, t, p<br>chroniques : NR  |
| Intoxication Paralysante par les Fruits de Mer (IPFM)  | Saxitoxine (21)<br>Gonyautoxine (6)                                | 9-11,6 µg/Kg<br>6,2-53,9 MU/ml<br><b>DL<sub>50</sub> chez l'humain :</b><br>0,5-01 mg | Alexandrium spp<br>Phallusia Nigra               | Poisson                          | Régions tempérées à tropicales              | 1-14 %            | aiguës : N, v, d, p, r<br>chroniques : NR     |
| Intoxication à l'histamine                             | Histamine  |   | Bactérie   | Poisson                          | Non définis                                 | nd                | aiguës : N, v, d, p,<br>chroniques : NR       |
| Intoxication à la tétrodotoxine «Fugu»                 | Tétrodotoxine  | <b>DL minimale :</b> 8-20 µg/Kg   | Bactérie<br>Phallusia Nigra                      | Poisson<br>Probablement crustacé | Japon; Brésil                               | 60 %              | aiguës : N, v, d, p, r, b,<br>chroniques : NR |
| Ciguatera  | Ciguatoxine (8)<br>Maitotoxine<br>Palytoxine<br>Carchatoxine       | 0,25-3.6 µg/Kg<br>0,13 µg/Kg  | Gambierdiscus spp.<br>Ostreoporosis lenticularis | Poisson<br>Fruits de mer (rare)  | Océan Pacifique, Caraïbes, Australie        | < 0.1 %           | aiguës : N, v, d, t, p;<br>chroniques : p     |
| Syndrome associé aux Pfiesteria                        | nd   | nd  | Pfiesteria piscida                               | Exposition aéroportés            | États-Unis                                  | nd                | aiguës : N, a,pc,v<br>chroniques : inconnu    |

Légende : a : amnésie, b : broncho-constriction, d : diarrhée, n : nausée, pc : changement de personnalité, p : paresthésie, r : détresse respiratoire, t : trouble de la thermosensibilité, v : vomissement, MU/ml : 1 MU (Unité souri est la dose nécessaire pour tuer une souris de 20g en 15 minutes). Adapté de Baden et al. 1995.

## Références

1. National, Research, Council. (1999) *Monsoons to microbes: understanding the ocean's role in human health*. Washington D.C.: National Academic press.
2. Crawford MA, Bloom M, Broadhurst CL, Schmidt WF, SCea. C. (1999) Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids* **34 (suppl)**:S39-47.
3. Pruss A. (1998) Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational waters. *Int. J. Epidemiol.* **27**:1-9.
4. Haile R, Witte J, Gold M, et al. (1999) The health effects of swimming in ocean water contaminated by storm drain runoff. *Epidemiology* **10**:355-363.
5. De Sylva D. (1999) Global warming and potential range extensions of poisonous and dangerous marine organisms. *World Resour. Rev* **11(2)**:174-189.
6. Morris J. (1999) Harmful Algal Blooms: an emerging public health problem with possible links to humawn stress on the environment. *AR Energy Environ.* **24(1)**:367-390.
7. Sierra-Beltran AP, Cruz A, Nunez E, Del Villar LM, Cerecero J, Ochoa JL. (1998) An overview of the marine food poisoning in Mexico. *Toxicon* **36(11)**:1493-502.
8. Pilon P, Dion R, Jochem K, et al. (2000) Ciguatera food poisoning linked to the consumption of imported barracuda-Montreal, Quebec, 1998. *Can Commun Dis Rep* **26(9)**:73-6.
9. Park DL, Guzman-Perez SE, Lopez-Garcia R. (1999) Aquatic biotoxins: design and implementation of seafood safety monitoring programs. *Rev Environ Contam Toxicol* **161**:157-200.
10. PAHO., Veterinary Public Health Program DoDPaC. (2000) Fish Mortality in Southeastern Caribbean Countries. *Epidemiological Bulletin* **21(2)**.
11. Epstein P. (1996) Changing coastal marine environments and human health. *Ecosystem Health* **2(3)**:166-176.
12. Shuval H. (2000) A preliminary estimate of the global disease burden associated with disease caused by wastewater pollution of the marine environment. In: (eds), *Coastal Oceans observation Panel, Costa Rica* 1-10.
13. O'Shea TJ, Rathbun GB, Bonde RK, Buergelt CD, Odell DK. (1991) An epizootic of Florida Manatees associated with dinoflagellate bloom. *Mar.Mammal.Sci.*, **7**:165-179.
14. Bossart GD, Baden DG, Ewing RY, Roberts B, Wright SD. (1998) Brevetoxicosis in manatees (*Trichechus manatus latirostris*) from the 1996 epizootic: gross, histologic, and immunohistochemical features. *Toxicol Pathol* **26(2)**:276-82.
15. Tester PA, Turner TJ, Damian S. (2000) Vectorial transport of toxins from the dinoflagellate *Gymnodinium breve* through copepods to fish. *journal of plankton Reseach* **22(1)**:47-62.



16. Smayda TJ, Shimizu Y. (1993) Toxic phytoplankton blooms in the sea. Oxford, UK: Elsevier.
17. FDA, (U.S. Food and Drug Administration Cffsaan. (2000) glossary: NCBI/NLM/NIH glossary.
18. Tosteson TR. (1995) The diversity and origins of toxins in ciguatera fish poisoning. P R Health Sci J **14**(2):117-29.
19. Freitas JC, Ogata T, Veit CH, Kodama M. (1996) Occurence of tetrodotoxin and Paralytic Shellfish toxins in *Phallusia Nigra* (Tunicata Ascidiacea) from the brazilian coast. J. Venom. Anim. Toxins **2**(1):1-7.
20. Steidinger KA, Baden DG. (1994) Toxic marine dinoflagellates. In: Donoflagellates.Spector DL, ed New-York: Academic press, 201-261.
21. Baden DG, Melinek R, Sechet V, et al. (1995) Modified immunoassays for polyether toxins: implications of biological matrixes, metabolic states, and epitope recognition. J AOAC Int **78**(2):499-508.
22. Baden D, Fleming L, Bean JA. (1995) Marines Toxins. In: Handbook of clinical neurology: intoxications of the nervous system. II Natural toxins and drugs.Wolff FAd, ed Amsterdam.: Elsevier.
23. Van Dolah FM. (2000) Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. Environ Health Perspect **108 Suppl 1**:133-41.
24. Teitelbaum JS, Zatorre RJ, Carpenter S, et al. (1990) Neurologic sequelae of domoic acid intoxication due to the ingestion of contaminated mussels [see comments]. N Engl J Med **322**(25):1781-7.
25. Whyte JNC, Jones TO, Ginther NG, Townsend LD. (1996) Physiological effects and retention of domoic acid in the oyster, *Crassostrea gigas*, fed the toxic alga *Pseudonitzschia pungens* f. *multiseriata*. Bull. Aquacult. Assoc. Can. **96**:73-75.
26. Durborow RM. (1999) Health and safety concerns in fisheries and aquaculture. Occup Med **14**(2):373-406.
27. Lefebvre KA, Dovel SL, M.W. S. (2001) Tissue distribution and neurotoxic effects of domoic acid in a prominent vector species, the northern anchovy *Engraulis mordax*. Mar. Biol. **138**:693-700.
28. Wekell JC, Trainer VL, Ayres D, Simons D. (2002) A study of spatial variability of domoic acid in razor clams: recommendations for resources management on the Washington coast. Harmful Algae **1**:35-43.
29. Fujiki H, Suganuma M, Suguri H, et al. (1988) Diarrhetic shellfish toxin, dinophysistoxin-1, is a potent tumor promoter on mouse skin. Jpn J Cancer Res **79**(10):1089-93.
30. Rodriguez-Rodriguez FA, Maldonado C. (1996) Brevetoxin-3 (PbTx-3) on mouse liver slices: a histological study. P R Health Sci J **15**(4):261-7.
31. Baden DG. (1989) Brevetoxins: unique polyether dinoflagellate toxins. Faseb J **3**(7):1807-17.

32. Mattei C, Dechraoui MY, Molgo J, Meunier FA, Legrand AM, Benoit E. (1999) Neurotoxins targetting receptor site 5 of voltage-dependent sodium channels increase the nodal volume of myelinated axons. *J Neurosci Res* **55**(6):666-73.
33. Purkerson SL, Baden DG, Fieber LA. (1999) Brevetoxin modulates neuronal sodium channels in two cell lines derived from rat brain. *Neurotoxicology* **20**(6):909-20.
34. Berman FW, Murray TF. (2000) Brevetoxin-induced autocrine excitotoxicity is associated with manifold routes of Ca<sup>2+</sup> influx. *J Neurochem* **74**(4):1443-51.
35. Poli MA, Musser SM, Dickey RW, et al. (2000) Neurotoxic shellfish poisoning and brevetoxin metabolites: a case study from Florida. *Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment [Neurological features after consumption of a variety of neo-caledonian shellfish]* Insidious effects of a toxic estuarine dinoflagellate on fish survival and human health. *Toxicon* **38**(7):981-93.
36. Poli MA, Lewis RJ, Dickey RW, Musser SM, Buckner CA, Carpenter LG. (1997) Identification of Caribbean ciguatoxins as the cause of an outbreak of fish poisoning among U.S. soldiers in Haiti. *Toxicon* **35**(5):733-41.
37. Van Dolah FM, Richard JL. (1999) Advances in detection methods for fungal and algal toxins. *Nat Toxins* **7**(6):343-345.
38. Blasco D, Levasseur M, Gélinas R, et al. (1998) Monitorage du phytoplancton toxique et des toxines de type IPM dans les mollusques du Saint-Laurent: 1989-1994. Report: Ministère des Pêches et Océans. Québec, x+117.
39. Clark RF, Williams SR, Nordt SP, Manoguerra AS. (1999) A review of selected seafood poisonings. *Undersea Hyperb Med* **26**(3):175-84.
40. Vernoux JP, Lahlou N, Abbad el Andaloussi S, Riyeche N, Magras LP. (1985) A study of the distribution of ciguatoxin in individual Caribbean fish. *Acta Trop* **42**(3):225-33.
41. Carmichael W, Jones CLA, Mahmood NA, Theiss WC. (1986) Algal toxins and water-based diseases. *Crit.Rev.Environ.control* **15**:285-293.
42. Sakamoto Y, Lockey RF, Krzanowski JJJ. (1987) Shellfish and fish poisoning related to the toxic dinoflagellates. *South Med J* **80**(7):866-72.
43. Juranovic LR, Park DL. (1991) Foodborne toxins of marine origin: ciguatera. *Rev Environ Contam Toxicol* **117**:51-94.
44. Gonzalez I, Tosteson CG, Hensley V, Tosteson TR. (1992) Role of associated bacteria in growth and toxicity of cultured benthic dinoflagellates. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):457-9.
45. Doorenbos NJ. (1984) Ciguatera toxins: where do we go from here? In: *Seafood toxins*. Ragelis E, ed Washington DC: American chemical Society, 60-73.
46. Lindsay J. (1997) Chronic sequelae of foodborne disease. *Emerging infectious diseases* **3**(4):443-452.

47. Dechraoui M-Y, Naar J, Pauillac S, A.-M. L. (1999) Ciguatoxins and brevetoxins, neurotoxin polyether compounds active on sodium channels. *Toxicon* **37**(125-143).
48. Vernoux JP, Lewis RJ. (1997) Isolation and characterisation of Caribbean ciguatoxins from the horse-eye jack (*Caranx latus*). *Toxicon* **35**(6):889-900.
49. Champetier De Ribes G, Rasolofonirina RN, Ranaivoson G, Razafimahefa N, Rakotoson JD, Rabeson D. (1997) Intoxication by marine animal venoms in Madagascar (ichthyosarcotoxism and chelonitoxism): recent epidemiological data. *Bull Soc Pathol Exot* **90**(4):286-90.
50. Perl TM, Bedard L, Kosatsky T, Hockin JC, Todd EC, Remis RS. (1990) An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contaminated with domoic acid [see comments]. *N Engl J Med* **322**(25):1775-80.
51. Olney JW. (1990) Excitotoxicity: an overview. *Can Dis Wkly Rep* **16 Suppl 1E**:47-57; discussion 57-8.
52. Ten-Hage L, Delaunay N, Pichon V, Coute A, Puiseux-Dao S, Turquet J. (2000) Okadaic acid production from the marine benthic dinoflagellate *Prorocentrum arenarium* Faust (Dinophyceae) isolated from Europa Island coral reef ecosystem (SW Indian Ocean). *Toxicon* **38**(8):1043-54.
53. Park DL, Ayala, C.E. (1999) Reduction of risks associated with foodborn fungal and aquatic biotoxins. Report: FEDRIP database, national technical information service (ntis).
54. Anderson DM, Kulis DM, Qi YZ, Zheng L, Lu S, Lin YT. (1996) Paralytic shellfish poisoning in southern China. *Toxicon* **34**(5):579-90.
55. Todd EC. (1997) Seafood-associated diseases and control in Canada. *Rev Sci Tech* **16**(2):661-72.
56. Sato S, Ogata T, Borja V, Gonzales C, Fukuyo Y, Kodama M. (2000) Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. *Toxicon* **38**(8):1101-9.
57. Wu ML, Yang CC, Yang GY, Ger J, Deng JF. (1997) Scombroid fish poisoning: an overlooked marine food poisoning. *Vet Hum Toxicol* **39**(4):236-41.
58. Glasgow HB, Jr., Burkholder JM, Schmechel DE, Tester PA, Rublee PA. (1995) Insidious effects of a toxic estuarine dinoflagellate on fish survival and human health. *J Toxicol Environ Health* **46**(4):501-22.
59. Burkholder JM, Glasgow HB, Jr. (1997) Trophic controls on stage transformations of a toxic ambush-predator dinoflagellate. *J Eukaryot Microbiol* **44**(3):200-5.
60. Lewitus AP, A. Rublee, PA. Mallin, MA. Shumbay, SE. (1999) Human health and environmental impacts from *Pfiesteria*: a science-based rebuttal to Griffith (1999). *Human organization* **58**(4):455-458.
61. De Sylva D. (1996) Fish species associated with ciguatera in the tropical western atlantic ocean. In: (eds), Workshop conference on seafood intoxications. Pan american implications of natural toxins in seafood, Miami (Florida)6-10.

62. Johnson R, Jong EC. (1983) Ciguatera: Caribbean and Indo-Pacific fish poisoning. *West J Med* **138**(6):872-4.
63. Sanner BM, Rawert B, Henning B, Zidek W. (1997) Ciguatera fish poisoning following travel to the tropics. *Z Gastroenterol* **35**(5):327-30.
64. Hokama Y. (1985) A rapid, simplified enzyme immunoassay stick test for the detection of ciguatoxin and related polyethers from fish tissues. *Toxicon* **23**(6):939-46.
65. Lehane L, Lewis RJ. (2000) Ciguatera: recent advances but the risk remains. *Int J Food Microbiol* **61**(2-3):91-125.
66. Bourdeau P, Bagnis R. (1989) [Risk factors of ciguatera in the French West Indies in Saint- Barthelemy, Saint-Martin and Anguilla]. *Rev Elev Med Vet Pays Trop* **42**(3):393-410.
67. Lee C. (1980) Fish poisoning with particular reference to ciguatera. *J Trop Med Hyg* **83**(3):93-7.
68. Coleman AM. (1990) Ciguatoxin-induced food poisoning in a community. Implications for disease surveillance and medical practice in Jamaica. *West Indian Med J* **39**(4):233-8.
69. Morris JG, Jr., Lewin P, Hargrett NT, Smith CW, Blake PA, Schneider R. (1982) Clinical features of ciguatera fish poisoning: a study of the disease in the US Virgin Islands. *Arch Intern Med* **142**(6):1090-2.
70. Engleberg NC, Morris JG, Jr., Lewis J, McMillan JP, Pollard RA, Blake PA. (1983) Ciguatera fish poisoning: a major common-source outbreak in the U.S. Virgin Islands. *Ann Intern Med* **98**(3):336-7.
71. De Haro L, Hayek-Lanthois M, Joossen F, Affaton MF, Jouglard J. (1997) [Mass ciguatera poisoning after eating barracuda in Mexico: prognostic and therapeutic implications]. *Med Trop* **57**(1):55-8.
72. Lange WR, Snyder FR, Fudala PJ. (1992) Travel and ciguatera fish poisoning. *Arch Intern Med* **152**(10):2049-53.
73. Tosteson T. (1996) Ciguatera in Puerto Rico. In: (eds), Workshop conference on seafood intoxications Pan american implications of natural toxins in seafood, Miami Florida 80.
74. Blythe DG, De Sylva DP, Fleming LE, Ayyar RA, Baden DG, Shrank K. (1992) Clinical experience with i.v. Mannitol in the treatment of ciguatera. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):425-6.
75. Pearn JH. (1997) Chronic fatigue syndrome: chronic ciguatera poisoning as a differential diagnosis. *Med J Aust* **166**(6):309-10.
76. Chan TY. (1998) Lengthy persistence of ciguatoxin in the body. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **92**(6):662.
77. Lewis ND. (1986) Disease and development: ciguatera fish poisoning. *Soc Sci Med* **23**(10):983-93.
78. Bagnis R, Kuberski T, Laugier S. (1979) Clinical observations on 3,009 cases of ciguatera (fish poisoning) in the South Pacific. *Am J Trop Med Hyg* **28**(6):1067-73.

79. Barton ED, Tanner P, Turchen SG, Tunget CL, Manoguerra A, Clark RF. (1995) Ciguatera fish poisoning. A southern California epidemic. *West J Med* **163**(1):31-5.
80. Epstein P. (1998) Marine Ecosystem- Emerging disease as indicators of change. Report:NOAA's Office of Global Programs and NASA. Boston,85.
81. Tosteson TR, Ballantine DL, Tosteson CG, Hensley V, Bardales AT. (1989) Associated bacterial flora, growth, and toxicity of cultured benthic dinoflagellates *Ostreopsis lenticularis* and *Gambierdiscus toxicus*. *Appl Environ Microbiol* **55**(1):137-41.
82. Chinain M, Germain M, Paulliac S, Legrand A-M. (1999) Seasonal abundance and toxicity of the dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae), the causative agent of ciguatera in Tahiti, French Polynesia. *Marine Biology* **135**(2):259-267.
83. Epstein P, Ford TE, Colwell RR. (1993) Marine ecosystems. *The Lancet* **342**:1216-1219.
84. Carlson R. (1984) Distribution, periodicity and culture of benthic/epiphytic dinoflagellates in a ciguatera endemic region of the Caribbean. PhD Thesis: Southern Illinois, Department of botany, Illinois.
85. Lewis RJ. (1992) Socioeconomic impacts and management ciguatera in the Pacific. *Bull Soc Pathol Exot* **85**(5):427-34.
86. Hokama Y, Ebesu J, Asuncion DA, Nagai H. (1996) Growth and cyclic studies of *Gambierdiscus toxicus* in the natural environment and in culture. In: Harmful and toxic algal blooms. Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y, eds. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 313-315.
87. Hales S, Kovats E, Woodward A. (2000) What El Nino can tell us about human health and global climate change. *Global change & human health* **1**(1):2-13.
88. Hallegraeff GM. (1993) A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* **32**(2):79-99.