

## LES ALLERGIES AUX BRYOZOAIRES

JEAN-LOUP D'HONDT

Muséum National d'Histoire Naturelle, Département " Milieux  
et peuplements aquatiques ", 55, rue Buffon, F-75005 Paris (France),  
e-mail : dhondt@mnhn.fr

**Résumé:** Les Bryozoaires sont des invertébrés microscopiques coloniaux, toujours aquatiques, en grande majorité marins, plus rarement d'eaux douces ou saumâtres, qui présentent différents mode de reproduction, sexuée ou asexuée. Sur les 5,700 espèces actuelles que compte cet embranchement, 6 ont été incriminées dans l'apparition de pathologies cutanées, se caractérisant par un eczéma de contact et des dermatoses diverses, dans certains cas avec photosensibilité. Le pouvoir allergisant de certaines espèces n'a été révélé que fortuitement ou dans les conditions expérimentales ; en revanche, différentes autres appartenant au genre *Alcyonidium* (Bryozoaires Ctenostomes), qui ont été à l'origine de maladies professionnelles affectant les marins pêcheurs, ont fait l'objet d'études cliniques. Ces pathologies cutanées ont frappé des marins des côtes britanniques, danoises et françaises de la Baie de Somme et de la mer du Nord et ont été à l'origine de la promulgation de lois spécifiques. Deux espèces, *Alcyonidium gelatinosum* et *A. hirsutum*, et un foyer épidémique principal, le Dogger Bank en mer du Nord, ont été à l'origine de la plupart des cas recensés. Un allergène possible, dérivé de l'ion diméthyl-sulfonium, a été identifié, mais il peut ne pas être le seul. La maladie se contracte par simple contact avec l'allergène, avec une durée d'évolution variable selon les patients, mais lorsque ceux-ci sont sensibilisés, ils le sont définitivement. Elle se caractérise à la fois par une sensibilité précoce et retardée, souvent avec surinfection si elle s'accompagne d'un traumatisme cutané. Aucun traitement efficace n'a encore été mis au point, d'où la recommandation de mesures prophylactiques aux professionnels de la mer amenés à entrer en contact avec ces organismes.

**Mots-clés:** Bryozoaires, dermatoses, sensibilisation, allergène, *Alcyonidium*

**Abstract:** The Bryozoa are colonial microscopic aquatic invertebrates, always aquatic, normally marine, but some species live in brackish- or in freshwater environments. They are characterized by various developmental strategies, sexual and asexual. Of the 5,700 recent species of Bryozoa, 6 have been implicated in the starting of skin pathologies, concretized by eczema of contact and various dermatosis, in some cases with photosensitivity. The allergenic power of some species has displayed fortiously or experimentally. Therefore, professional diseases concerning fishermen are induced by contact with other species belonging to the genus *Alcyonidium* (Bryozoa, Ctenostomona) ; it was at the start of clinical studies. These skin pathologies concern sailors from Great-Britain, Denmark and France (Authie Bay, coasts of Nordsee) and are at the origin of the promulgation of specific laws concerning this professional illness. Two species particularly, *Alcyonidium gelatinosum* and *A. hirsutum*, and an epidemic source, the Dogger Bank (Nordsee), induced the most pathologic cases. A potential allergene, derived from the ion dimethyl-sulfonium, has been identified, but it may not be alone. The illness is contracted by single contact with the allergene ; the duration of evolution of the pathology is variable according to the patients, but when they are sensibilized, the disease is definitively acquired. The illness is characterized both by a precocious and a delayed sensitiveness ; often a surinfection occurs in case of epidermic traumatism. No efficient treatment has been perfected

up to now, and this fact has necessitated the promulgation of prophylactic measures concerning the fishermen.

**Keywords:** Bryozoa, dermatosis, sensibilization, allergene, *Alcyonidium*

## INTRODUCTION

Les Bryozoaires constituent l'un des 37 embranchements du règne animal. Ce sont des organismes pluricellulaires, coelomates, protostomiens, entérocoelomates mais non archicoelomates, généralement coloniaux, aquatiques ; chaque colonie (formée de quelques unités à plusieurs milliers d'individus) est constituée par un nombre variable d'animaux microscopiques nés par bourgeonnement les uns des autres, ce mode de reproduction asexuée contribuant à l'accroissement du zoarium. Selon les espèces ils peuvent être dressés, encroûtants, rampants, buissonnants, arbustifs, méiobenthiques, libres, sessiles, implantés dans le sédiment, exceptionnellement lentement mobiles sur leur substrat ou à l'intérieur du sédiment ; quelques espèces sont capables de nager. Les espèces sessiles sont attachées à leurs substrats (rochers, cailloux, branches, brindilles, algues, objets industrialisés en verre ou en matière plastique, autres organismes tels des Mollusques, des Brachiopodes, des Hydriaires ou d'autres Bryozoaires) par des dispositifs variés. Quelques espèces sont ectoparasites, inquilines ou phorétiques, alors associées à des Annélides Polychètes ou à des Mollusques.

Les espèces marines vivent généralement dans un intervalle bathymétrique spécifique : région intercotidale ou littorale, plateau continental, étages bathyaux superficiel et profond, milieu abyssal. Différentes espèces ont une morphologie particulière en corrélation avec le milieu particulier qu'elles colonisent. Certaines sont cosmopolites, d'autres inféodées à un milieu ou à une aire géographique déterminée; de plus en plus d'espèces sont introduites et peuvent se révéler envahissantes. Leur découverte est imputable à un médecin, professeur à la Faculté de Médecine de Montpellier, GUILLAUME RONDELET (1507-1566), qui publia en 1555 la description de la première espèce connue, à la colonie rétéporiforme de couleur rose formant une dentelle calcaire de forme complexe dans l'espace, actuellement connue sous le nom de *Reteporella grimaldii* (JULLIEN in JULLIEN et CALVET 1903), et qu'il avait poétiquement appelée en raison de sa teinte " giroflade de mer ".

Sur les 5,700 espèces actuelles de Bryozoaires répertoriées, 5,400 environ sont strictement marines, 200 vivent dans les milieux saumâtres, une centaine est strictement inféodée aux eaux douces. Parmi ces dernières figurent quelques Cténostomes et la totalité de la Classe des Phylactolaemates (soit autour de 80 espèces connues). Il existerait près de 15,000 espèces fossiles.

Les Bryozoaires sont probablement des organismes primitifs, puisque chaque individu conserve à l'état adulte (à l'exception des Phylactolaemates, qui en constituent probablement le groupe le plus évolué) des capacités morphogénétiques embryonnaires, celles d'une gastrula, correspondant à une capacité de bourgeonnement d'un endoderme par prolifération de cellules ectodermiques. La partie viscérale du Bryozoaire (tube

digestif, centre nerveux, musculature), également appelée polypide, dégénère en effet périodiquement ; elle est alors remplacée par un polypide de remplacement, provenant de l'évolution d'un bourgeon épidermique se développant et croissant vers l'intérieur et finissant par s'isoler de l'épiderme qui lui a donné naissance ; ce bourgeon différenciera ensuite les différents segments d'un tractus digestif normal ; ainsi, c'est un petit nombre de cellules d'un territoire ectodermique, l'épiderme, qui évoluent pour donner naissance à un organe digestif, vocation normale d'un endoderme. Les Bryozoaires sont des coelomates, pourvus d'une somatopleure sous-épidermique et d'une splanchnopleure qui emballle le polypide ; la cavité coelomique, indivise, se creuse par schizocoélie (apparition d'une cavité au sein des tissus) au cours de la métamorphose de la larve fondatrice de la colonie; une portion du coelome est ensuite successivement transmise à chaque individu-fils dès que celui-ci est bourgeonné par un individu-parent. Il n'existe ni appareil respiratoire, ni circulatoire (des molécules peuvent néanmoins cheminer entre les travées des faisceaux mésenchymateux qui relient le polypide à l'épiderme) ni excréteur différenciés. Les déchets du métabolisme sont en partie rejetés par l'orifice anal, mais une autre partie s'accumule dans l'épaisseur des parois du tube digestif ; celui-ci se déforme alors anatomiquement sous la pression de l'accumulation des résidus, s'intoxique, perd ses capacités digestives, et finit par devenir mécaniquement et physiologiquement incapable d'assurer sa fonction assimilatrice. Il entre alors en dégénérescence, avant d'être remplacé. Chaque individu a schématiquement la forme d'une petite boîte, communiquant avec ses voisins par de minuscules perforations qu'empruntent entre autres les fibres nerveuses qui relient l'ensemble des individus d'une même colonie et en assurent les réactions d'ensemble ; chaque individu présente à sa partie antérieure l'orifice de sortie des tentacules, qui peut être fermé par différents types de dispositifs. La paroi de cette "boîte", l'exosquelette ou cystide, comprend de l'extérieur vers l'intérieur une cuticule chitineuse, dans certaines lignées une assise calcifiée, l'épiderme et la somatopleure mésodermique.

Le tractus digestif débute par un panache tentaculaire, dévaginable vers l'extérieur pour la prise de nourriture, entourant l'orifice buccal. Les tentacules sont alors presque immobiles, disposés suivant une corbeille ; c'est le battement des cils les recouvrant qui crée les courants d'eau amenant vers l'orifice buccal les particules alimentaires en suspension dans le milieu ambiant (l'équipement enzymatique digestif est essentiellement adapté à l'assimilation d'aliments d'origine végétale). Font suite à la bouche un pharynx broyeur, un œsophage (parfois localement dilaté en gésier), un estomac pourvu d'un volumineux caecum digestif où s'effectue une grande partie de la digestion proprement dite, un intestin assimilateur, un pylore cilié et un rectum non cilié s'achevant par l'anus. Au repos, les tentacules en rétraction s'invaginent dans un étui cylindrique, la gaine tentaculaire, dans laquelle s'ouvre également l'orifice anal ; les Bryozoaires sont des ectoproctes, puisque le pore anal se situe à l'extérieur de la couronne tentaculaire. Le centre nerveux, annulaire, est situé à la base de la couronne tentaculaire, et s'épaissit sur une partie de sa longueur pour former un ganglion.

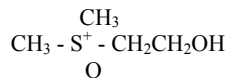
Enfin, une colonie de Bryozoaires, outre les individus fonctionnels précédemment décrits et qui renferment chacun un polypide, peut également comporter d'autres individus sans polypide et à fonction spécialisée : incubation des œufs et des embryons (ovicelle), rôle défensif et nettoyeur (aviculaires), parfois locomoteur (vibraculaires).

Chez les Bryozoaires Eurystomes, la reproduction sexuée donne naissance à un embryon qui se développe selon les lignées, soit dans une ovicelle, soit dans la gaine tentaculaire, soit dans un sac appendu à l'orifice. La larve est souvent émise à la fin de son organogenèse, et elle n'a plus alors besoin que d'une courte période de maturation physiologique avant d'être apte à se métamorphoser. Dans d'autres cas, elle est pondue sous une forme indifférenciée ; sa maturation anatomique et physiologique nécessitera une période de vie libre, supposée durer dans certains cas plusieurs semaines. Certaines de ces larves pondues immatures sont dépourvues de tube digestif, ou celui-ci est atrophié et peut s'être transformé en réserve de glycogène ; elles vivent donc sur leurs réserves (larves lécitotrophes) ; d'autres au contraire sont planctotrophes, pourvues d'un tube digestif fonctionnel qui leur permet d'assimiler des particules organiques. Chez les Phylactolaemates, l'embryogenèse et la morphogenèse sont télescopées pendant l'incubation ; l'individu reproducteur pond lui-même alors par viviparité une jeune colonie, formée d'un ou de deux premiers individus déjà formés. La complexité des larves d'Eurystomes varie selon le groupe de Bryozoaires auquel appartient l'espèce considérée. La larve finira par entrer au contact du substrat, s'y métamorphosera, et deviendra l'individu fondateur (ou ancestrula) d'une nouvelle colonie qui s'accroîtra ensuite progressivement par bourgeonnement.

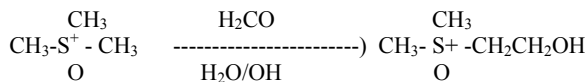
La reproduction asexuée revêt des formes variées. Elle ne concerne que quelques espèces d'Eurystomes, alors qu'elle constitue un phénomène très général chez les Phylactolaemates. Chez ces Eurystomes, à l'approche de la mauvaise saison, il se forme à l'intérieur de la colonie des hibernacles, capsules closes renfermant un jeune polypide bloqué au tout début de sa différenciation, et qui deviendra un individu fondateur au retour de conditions climatiques favorables. Chez les Phylactolaemates, il se différencie, également à l'intérieur des individus, des structures de résistance complexes, les statoblastes, comprenant un exosquelette périphérique épais et résistant (comportant généralement un flotteur annulaire renfermant des alvéoles remplies d'air), doublé intérieurement par une assise de cellules-souches d'origine épidermique, et renfermant en son centre une énorme masse de cellules vitellines. Si le flotteur est peu développé (sessoblastes), les statoblastes restent à demeure, passent sur place la mauvaise saison, et perpétueront l'espèce *in situ* l'année suivante ; si le flotteur est bien développé (flottoblastes), ils seront rejetés à l'extérieur dès leur élaboration, puis emportés par les courants, et propageront l'espèce à distance. Les flottoblastes peuvent ainsi être à l'origine de la propagation des espèces vers de nouvelles localités par les oiseaux migrateurs, soit après avoir été ingérés avec leur nourriture, non digérés, puis rejetés, soit fixés à leurs pattes.

## CONSIDERATIONS GENERALES SUR LES BRYOZOAIRES PATHOGENES

A ce jour, les Bryozoaires ont fait l'objet de nombreuses études biochimiques ; lorsque KORNPROBST (2005) a remis à l'éditeur pour publication définitive son ouvrage de synthèse sur les substances naturelles extraites d'animaux marins, il avait déjà recensé 230 références bibliographiques sur la biochimie des Bryozoaires. Des produits actifs ont été extraits de représentants d'une vingtaine de familles et d'une cinquantaine d'espèces de Bryozoaires : essentiellement des alcaloïdes, produits répulsifs pour divers prédateurs, et des bryostatines, dotées de propriétés anti-tumorales appréciées. Parmi les différentes substances qui ont ainsi été isolées, l'une a été présentée comme le responsable des dermatites occasionnées par les Bryozoaires, le chlorure de (2-hydroxyéthyl) diméthylsulfoxonium (TURK *et al.* 1966, CARLE & CHRISTOPHERSEN 1980 a et b, 1982, CARLE *et al.* 1982). Cette molécule a aussi par la suite été isolée d'une éponge cytotoxique (WARABI *et al.* 2001). Le processus de l'extraction a consisté en un broyage de spécimens, la conservation de l'extrait à basse température (-20 °C), suivie d'une dialyse, puis de l'extraction alcoolique d'un composant soluble, puis d'une chromatographie de celui-ci sur colonne de cellulose avant étude en spectrographie de masse. L'enregistrement correspondant a révélé l'existence de deux fractions, matérialisées par 2 pics, dont l'une seulement est active. L'étude de celle-ci, après passage sur une colonne de Séphadex, a montré qu'elle était composée de 4 sous-fractions, dont deux actives, l'une plus que l'autre ; selon une autre méthode, il existerait en fait 8 pics, dont deux correspondent toujours aux allergènes. La formule du principe actif est la suivante :



L'action sensibilisante semble liée au groupe méthylène adjacent à l'atome de soufre. L'allergène est estimé à 5 ppm du poids humide d'*A. gelatinosum* ; sa masse moléculaire est approximativement de 300. Sa synthèse a été obtenue par réaction catalytique en milieu basique et à température ambiante, par action de l'aldéhyde formique sur le chlorure de triméthylsulfonium, selon la réaction :



Les Bryozoaires ne sont pas des animaux venimeux au sens strict du terme, en ce sens qu'ils sont dépourvus d'un dispositif d'inoculation. Sur les 5,700 espèces actuelles que compte cet embranchement, 6 seulement ont été spécifiquement mises en cause

dans le déclenchement de pathologies cutanées, dont la manifestation la plus évidente est le développement d'un eczéma de contact.

Pour faciliter la compréhension de la suite de ce texte, nous rappellerons ici les grandes lignes de la classification des Bryozoaires (D'HONDT 1997, modifiée par D'HONDT 2001) :

**Classe des Eurystomes.** Couronne tentaculaire de section circulaire. Individus bien individualisés. Reproduction sexuée conduisant à la différenciation de véritables larves subissant une métamorphose (développement indirect). Tégument chitineux ou chitino-calcaire. Pas de statoblastes. Développement direct avec larves et métamorphose. Marins et d'eau douce. Deux sous-classes :

A ) Cténostomes : Tégument (cystide) chitineux. Fermeture de l'orifice de sortie des tentacules par resserrement d'un sphinter musculaire. Anatomie larvaire complexe. Marins, d'eau douce et d'eau saumâtre.

B ) Cheilostomes : Tégument (cystide) chitineux superposé à une couche calcaire sécrétée par l'épiderme, plus ou moins épaisse, et sur toutes les faces de l'individu ou seulement sur certaines d'entre elles, la face frontale en particulier pouvant rester membraneuse. Orifice clos par rabattement d'un opercule actionné par une musculature spécifique. Anatomie larvaire complexe. Marins, exceptionnellement d'eau douce et d'eau saumâtre.

**Classe des Sténolaemates.** Un seul ordre actuel, celui des Cyclostomes. Tégument calcaire. Individus tubulaires, cylindriques, clos par resserrement d'un sphinter musculaire. Couronne tentaculaire de section circulaire. Développement indirect, avec des larves de structure très simple et une métamorphose. Marins.

**Classe des Phylactolaemates.** Tégument chitineux. Individus souvent plus ou moins fusionnés. Section de la couronne tentaculaire en forme de fer à cheval plus ou moins marquée. Développement direct, sans véritables larves ni métamorphose ; individu fondateur simple ou double, libre et nageur. Occlusion de l'orifice par une languette, l'épistome. Emission de formes de résistance, les statoblastes. Dulcicoles.

### **Les six espèces de Bryozoaires allergènes identifiées**

Les premières données synthétiques sur les allergies aux Bryozoaires sont récapitulées dans deux monographies assez anciennes, celles de RYLAND (1967) et de HALSTEAD (1978); aussi leur intérêt actuel est-il surtout historique. Les 6 espèces dont le pouvoir pathogène a été mis en évidence, soit à partir de cas cliniques (AUDEBERT & LAMOUREUX 1978, BONNEVIE 1948, DUBOS *et al.* 1977, 1980a et b, FONTAINE 1982, JEANMOUGIN *et al.* 1987, NEWHOUSE 1966 a et b, SEVILLE 1957, D'HONDT inédit ; A. DENDAOUZ inédit), soit uniquement grâce à des tests effectués sur des animaux de laboratoire (FONTAINE 1982) sont les suivantes :

### 1 ) *Alcyonidium gelatinosum* (HASSALL, 1841) (Cténostomes)

Cette espèce, morphologiquement très variable en une même localité (D'HONDT & MOYANO 1979), est présente sur les côtes occidentales européennes, en Manche, en Mer du Nord et dans les mers septentrionales ; la colonie peut être grêle, épaisse, de non à très ramifiée, haute ou basse en une même localité. Les plus grandes colonies européennes conservées ont une cinquantaine de centimètres de hauteur. Certaines formes géographiques, dont le pouvoir pathogène n'a pas été démontré (ou qui en sont dépourvues) ont été décrites et ont peut-être été rattachées à tort à cette espèce : par exemple une population aux branches trapues et courtes décrite du Japon, et une forme géante et peu ramifiée des côtes chiliennes qui constitue vraisemblablement une espèce distincte.

Familièrement appelée “ main de larron ”, cette espèce arborescente, brune à l'état jeune et brun-rouge chez les spécimens âgés, à branches lisses de section cylindrique, vit fixée sur des substrats durs (pierres, rochers, coquilles) de la zone de basse mers de vives eaux à une trentaine de mètres de profondeur ; sur les côtes bretonnes et normandes, elle est souvent rejetée en grande abondance sous forme d'épaves. Sur les côtes des Pays-Bas, elle est remplacée par une espèce voisine, *A. proliferans* LACOURT, 1949, plus massive, peu ramifiée, aux branches de section plus carrée et formant de courts lobes se formant surtout vers le haut. Elle est de couleur un peu plus foncée, apparemment sans pouvoir pathogène ; une récolte isolée est connue de l'île d'Yeu.

### 2 ) *Alcyonidium topsenti* ROEHRICH, 1910 (Cténostomes)

Les colonies, de couleur beige clair et de contours très irréguliers et noueux, pâlisant dans l'alcool, ne mesurent que rarement plus d'une quinzaine de centimètres de hauteur. Les branches sont cylindriques mais noueuses avec de brusques différences localisées de diamètre, sans longue portion isodiamétrique, d'apparence rugueuse. Aucun cas clinique n'est imputé à cette espèce, mais son pouvoir allergisant a été montré expérimentalement. Elle est localisée à quelques mètres de profondeur dans le Pas-de-Calais, autour de Wimereux et de Boulogne-sur-Mer (elle y colonise des épaves en compagnie d'*A. gelatinosum* : les deux espèces sont donc sympatriques et ne s'excluent pas mutuellement) ; le musée d'Amsterdam en abrite un exemplaire probable, récolté à Zuitvoort, et celui de Hambourg un autre provenant de mer du Nord sans autre précision. Elle est souvent détachée du substrat par les vagues et rejetée en épave.

### 3 ) *Alcyonidium hirsutum* (FLEMING, 1828) (Cténostomes)

Cette “ espèce ”, de couleur brune, marron-grisâtre, jaunâtre ou brune, parfois verdâtre, est encroûtante sur des algues diverses, mais principalement sur *Fucus serratus*; elle y forme des coussins souvent épais, mamelonnés, à contenu très visqueux, à surface d'apparence veloutée en raison de la présence de nombreuses papilles microscopiques superficielles. Elle cohabite souvent avec une espèce voisine



Colonie d'*Alcyonidium gelatinosum*.  
Origine : Dogger Bank. Hauteur totale : 40 cm.

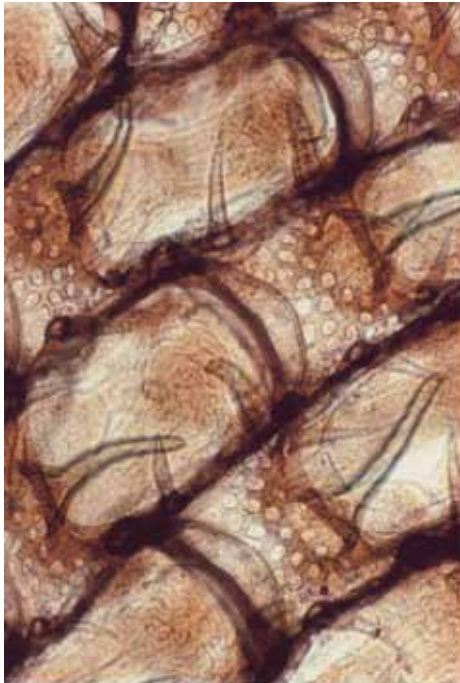
Colonie  
d'*Alcyonidium gelati-*  
*nosum*.  
Origine :  
Lus-sur-Mer.  
Hauteur totale : 16 cm.



Colonie d'*Alcyonidium hirsutum*. Origine :  
Dinard, plage de Saint-Enogat.  
Longueur totale : 7 cm.



inoffensive, à colonies moins épaisses, souvent très aplaties et à surface lisse, n'ayant jamais une apparence de coussinet, de couleur brune à vert-olive, *Alcyonidium polyoum* (HASSALL, 1841) *sensu* PRENANT et BOBIN, 1956 ; on la rencontre parfois aussi avec *Electra pilosa* dont il sera question plus loin. Des études de polymorphisme enzymatiques sur gels d'électrophorèse traditionnels et à gradient de porosité ont montré que le binome *Alcyonidium hirsutum* recouvrait en réalité sur les côtes européennes une huitaine d'espèces cryptiques et apparemment allopatriques, ayant chacune sa



Fragment d'une colonie d'*Electra pilosa*  
(le polypide est visible par transparence).

Origine : Roscoff.

Longueur des autozoécies : 0,5 mm.

répartition géographique propre; on ignore encore si toutes ces espèces sont allergènes, ou si c'est seulement le cas pour certaines d'entre elles. Le complexe d'espèces cryptiques *Alcyonidium hirsutum* se rencontre dans l'Arctique, en Mer du Nord, dans la Manche et des deux côtés de l'Atlantique Nord (récoltes personnelles au Massachusetts).

#### 4 ) *Flustra foliacea* (LINNE, 1758) (Cheilostomes)

Cette espèce dressée et palmée, de couleur gris-beige à brun clair, aux colonies translucides plates et bistratifiées, de morphologie générale assez constante, émet dans un même plan un petit nombre de lobes larges (souvent de 1 à 2 cm) arrondis à l'extrémité, caractère qui lui donne l'aspect d'un éventail ramifié et lacinié. Sa hauteur totale peut atteindre une vingtaine de centimètres ; elle est fixée au substrat (rocheux) et porte souvent des épibiontes. Elle se rencontre à quelques mètres de

profondeur dans les mers du nord de la Russie, en Mer du Nord, en Manche et sur les côtes atlantiques européennes jusqu'au Golfe de Gascogne ; elle ne semble pas présente en Méditerranée. Elle est souvent arrachée de son substrat et rejetée en épave sur certaines plages de Normandie et du Nord de la France. Aucun cas clinique ne lui est imputé, mais son pouvoir pathogène a été expérimentalement démontré.

### 5 ) *Electra pilosa* (LINNE, 1767) (Cheilostomes)

Ce Bryozoaire encroûtant, de couleur blanche et d'aspect rugueux, se développe avec l'aspect d'une fine dentelle sur des substrats divers (algues rouges et brunes, coquilles) ; il s'observe de la zone intercotidale jusqu'à quelques dizaines de mètres de profondeur. Ses colonies ont une forme irrégulière (lobée, étoilée, plus rarement circulaire) et émettent souvent des ramifications triangulaires ou digitiformes vers la périphérie ; certaines populations produisent également de fines branches dressées, bistratifiées ou quadrisériées. On rencontre cette espèce dans les mers septentrionales de l'Europe, en Mer du Nord, en Manche, dans l'Atlantique Nord, probablement dans une très grande partie des mers tempérées de l'hémisphère nord, ainsi qu'en Méditerranée, en Mer Rouge, en Mauritanie, en certains points dans l'Indo-Pacifique. Elle supporte des faciès beaucoup plus battus par les vagues que les *Alcyonidium hirsutum* et *A. polyoum*, auxquels elle se substitue comme épibionte sur les *Fucus* dans les milieux très agités. Le seul cas clinique qui lui a été imputé (JEANMOUGIN *et al.* 1987), a été à l'origine de la découverte du phénomène de photosensibilité lié à l'allergie aux Bryozoaires.

### 6 ) *Plumatella fungosa* (PALLAS, 1768) (Phylactolaemates)

Ce Bryozoaire d'eau douce, qui peut former (comme c'est le cas au Japon) des masses volumineuses et denses de l'ordre d'un mètre de diamètre, se présente à l'état jeune sous la forme d'une petite colonie trapue et ramifiée, rampant sur le substrat. Bien développé, il forme des masses très volumineuses et particulièrement denses, plus ou moins ostensiblement lobées, atteignant en Europe les dimensions d'une tête d'enfant, et dont le développement excessif a été à l'origine de l'obturation des circuits de refroidissement de certaines centrales thermiques et d'alimentation des bassins et des fontaines de châteaux célèbres pour leurs " grandes eaux ". Elle entoure souvent les tiges de plantes aquatiques, des branches ou des racines immergées, mais elle recouvre aussi parfois des coquilles vivantes de Mollusques, des feuilles et des objets en matière plastique. Cette espèce holarctique est présente dans la plus grande partie de l'Europe, dans des eaux calmes, courantes ou stagnantes ; elle supporte des milieux très pollués.

Un seul cas (jusqu'ici inédit) d'allergie à *P. fungosa* est connu : celui d'une étudiante ayant entrepris un travail de recherche sur cette espèce, impliquant des récoltes sur le terrain et une étude au laboratoire, qui a développé sur les poignets au bout de quelques semaines des pustules caractéristiques, disparaissant durant les périodes de non-contact avec ces animaux, réapparaissant lors de la reprise des manipulations, et dont elle ne présentait plus de traces visibles après la fin de son programme de recherche. L'intéressée n'a pas jugé utile d'en informer un médecin ; aussi aucune étude clinique n'a-t-elle été entreprise sur son cas.

## RAPPEL HISTORIQUE

Les milieux scientifiques et médicaux français se sont pour la première fois intéressés en 1975 à l'eczéma professionnel occasionné par le contact avec des Bryozoaires que lors de l'annonce des premiers cas, survenus en Baie de Seine. A cette époque, la mer avait pris très rapidement et de façon inattendue une couleur rouge, phénomène naturel et classique en milieu tropical, lié à la prolifération de Dinoflagellés planctoniques lorsqu'elle se produit dans des eaux calmes, peu profondes et surchauffées. Mais un tel événement était encore inconnu en Normandie, et il a immédiatement été baptisé " boues rouges " par les populations locales. Il a dès lors été incriminé comme étant le facteur déclenchant l'eczéma qui frappait alors un certain nombre de marins pêcheurs de la région. Mais les pêcheurs eux-mêmes incriminaient plutôt une prétendue " algue pain d'épice " qu'ils éliminaient alors en nombre et à mains nues de leurs filets ; ces organismes se révélèrent plus tard être des Bryozoaires arborescents de l'espèce *Alcyonidium gelatinosum*. Ils donnèrent lieu à la description des premiers cas cliniques observés sur les côtes françaises.

L'hospitalisation urgente dans un service de dermatologie de l'un de ces marins, atteint d'un très spectaculaire eczéma apparu sur ses mains, a été dès le lendemain à l'origine d'une manifestation de pêcheurs au large de Trouville, préluant à une campagne de presse, d'abord locale puis relayée par les journaux nationaux, où l'on dissertait sur la " mer malade de la pollution ". La radio et la télévision s'emparèrent de l'affaire et parlèrent alors de " marins gravement brûlés et de poissons nécrosés ". C'est dans ce contexte qu'a été entreprise de 1975 à 1977 une enquête épidémiologique, portant sur les 120 marins pêcheurs de la Baie de Seine ; elle a été menée par le Dr. DUBOS, médecin appartenant alors au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées (DUBOS *et al.* 1977, 1980 a et b).

En fait, les allergies aux Bryozoaires étaient déjà connues depuis longtemps hors de l'Europe. Les premières manifestations en avaient été signalées au XIXe siècle: des dermites eczémateuses affectant des plongeurs grattant des coques de navires aux Touamotu, et des irritations cutanées et oculaires présentées par des pêcheurs de Nouvelle-Galles du Sud (Australie). Les premiers cas européens ont été signalés en 1937-1938, chez des pêcheurs danois enregistrés au port d'Esbjerg (Danemark), chez lesquels on a dénombré de nombreux cas d'allergie cutanée ; la maladie avait été contractée lors de la manipulation du Bryzoaire *Alcyonidium hirsutum* encroûtant des algues brunes, lors de dragages réalisés sur un haut-fond situé en Mer du Nord entre la Grande-Bretagne et le Danemark, le Dogger Bank. C'est pour cette raison que la maladie porte en Europe du Nord le nom de " Dogger Bank Itch ". Elle a justifié 95 cas d'hospitalisation à l'hôpital d'Esbjerg en 1939, avant que la guerre, puis à partir de 1965 des mesures préventives, ne les ramènent à 15-20 par an, et maintenant une demi-douzaine. La maladie du Dogger Bank a été reconnue comme maladie professionnelle par la législation danoise en 1939 ; elle l'est en France depuis 1976.

Un premier auteur, BONNEVIE, démontra en 1948 par des tests épicutanés l'origine allergique de cet eczéma de contact. Cette dermatose était à cette époque la seule connue pour être provoquée par un animal marin vivant. En 1962, une épidémie identique frappa les pêcheurs anglais du port de Lowestoft, et l'allergène fut déterminé comme étant un Bryzoaire arborescent voisin du précédent, *Alcyonidium gelatinosum*. En 1965, une étude épidémiologique confiée au physiologiste anglais NEWHOUSE montra que 7.1% des pêcheurs de Lowestoft présentaient un eczéma de contact aux Bryozoaires, et que cette valeur s'élevait à 18.2% chez les travailleurs manipulant le chalut ou les poissons. La confirmation de l'identité de l'allergène a été confirmée en comparant :

- des extraits d'*A. gelatinosum* vivants ;
- de l'eau de mer ayant contenu des *A. gelatinosum* ;
- des extraits aqueux d'*A. gelatinosum* ;
- des extraits acétoniques d'*A. gelatinosum*.

La réponse au contact de l'allergène est toujours très intense, sinon excessive, et on parle alors d'hypersensibilité.

Les détergents, le gas-oil, les composants chimiques des fibres des filets, et différents organismes également remontés par les chaluts (les Hydraires *Sertularia argentea* et *Nemertesia antennata*), ou des algues du genre *Codium* que leur morphologie peut amener à confondre avec des *Alcyonidium gelatinosum*, ne sont pas allergènes.

### Signes cliniques

L'étude clinique entreprise en France par DUBOS de 1975 à 1977 a porté sur 120 pêcheurs embarqués à bord de 46 navires effectuant des campagnes de pêche de nuit, et qui utilisaient des chaluts de fond et des chaluts trémail. Lorsque ces filets sont remontés, les marins effectuent un tri manuel et rejettent à la mer, à main nue pour gagner du temps, tous les organismes qui ne sont pas commercialisables, et en particulier les Bryozoaires (qui représentent parfois dans leurs filets une masse presque égale à celle du poisson). D'autres cas cliniques ont par la suite été signalés chez les marins pêcheurs de Boulogne-sur-Mer, Fécamp, Dieppe, Arromanches, Caen et Le Havre. *A. gelatinosum* est rejeté en abondance sur les grèves de la région de Luc-sur-Mer, près de Caen, à chaque tempête. Les cas sont beaucoup plus rares dans la région de Boulogne où l'on rencontre surtout une autre espèce arborescente, *A. topsenti*, apparemment non allergène, alors qu'*A. gelatinosum*, tout en y étant présent, y est considérablement moins commun (Y. MULLER, communication personnelle).

L'allergie se contracte par contact cutané. Elle se manifeste par l'apparition de papules irritantes de 3-4 mm de diamètre, se résorbant ensuite pour réapparaître de façon de plus en plus marquée à chaque contact avec l'allergène. Les signes cliniques sont les suivants : eczéma, soit sec avec fissures, soit suintant, parfois vite surinfecté, localisé sur la face antérieure des poignets et des avant-bras, avec extension

progressive au dos de la main et au coude, à l'ensemble du membre supérieur, avec parfois atteinte du visage avec apparition de boursouffures et de démangeaisons autour des yeux. Ces signes cliniques disparaissent au bout d'une semaine. Les cas extrêmes se traduisent par une rubéfaction cutanée, l'apparition d'enflures purulentes de teinte claire sur les membres supérieurs et inférieurs (kératodermie plantaire) et la face. Ces boursouffures grossissent, finissent par former de larges plaies turgescentes gênant les mouvements des membres jusqu'à entraîner une incapacité professionnelle. Le prurit peut être tel qu'il peut entraîner plusieurs nuits d'insomnie. Les paupières, avant desquamation, prennent un aspect écailleux. Les crises d'eczéma se manifestent surtout pendant l'été, pour disparaître à l'automne quand l'effort de pêche se ralentit, avec une rechute régulière tous les ans. Elles ont parfois nécessité un changement d'activité ou un départ anticipé en retraite. Les cas les plus aigus nécessitent jusqu'à une dizaine de jours d'hospitalisation ; la récession de la maladie se manifeste par une abondante desquamation, dont il ne persistera aucune trace visible, notamment sur le visage. L'affection n'est pas accompagnée d'asthme et il ne semble pas exister de prédisposition héréditaire. La biopsie montre une spongiose de l'épiderme et des infiltrations inflammatoires périvasculaires du derme.

Il n'a pas été mis en évidence de relation entre l'âge des pêcheurs atteints et une différence dans le délai d'acquisition de la réaction cutanée. Le marin guéri conserve une sensibilisation à la maladie, dont les signes cliniques réapparaissent dès son retour sur les lieux de pêche. Aucun traitement prophylactique ou thérapeutique ne parvient à guérir totalement la sensibilisation acquise par le patient. La régression des manifestations eczémateuses de l'allergie est simplement liée à la suppression du contact avec l'allergène, mais seuls les signes cliniques disparaissent. Une pommade à base de fluocinolone et de maléate de chlorophénylamine s'est révélée d'une certaine efficacité dans le traitement curatif. Les consignes d'hygiène données à titre préventif aux marins pêcheurs consistent en un lavage fréquent du visage et des membres, même en l'absence de signe cliniques, et en la recommandation du port de gants. Elles suggèrent également le remplacement des cirés en polyvinyle par des vêtements moins irritants par frottement. Mais le port de gants ralentissant leur travail, les pêcheurs ne respectent pas toujours cette recommandation dans un souci de rentabilité; le frottement des cirés sur la peau semble faciliter la sensibilisation. Seuls les extraits et individus frais sont réactogènes ; des extraits testés l'année suivante ne l'étaient plus. Le délai de sensibilisation varie beaucoup d'un individu à un autre, de 33 à 45 ans ; mais lorsqu'elle est acquise, elle est irréversible. Si la durée de sensibilisation est très variable, un rappel de sensibilité peut modifier la réponse allergique.

Dans les biotopes largement colonisés par l'animal, l'allergène peut diffuser dans l'eau de mer, et être transmis par les embruns. Il a été signalé des rechutes de patients traversant simplement des lieux de pêche sur le pont d'un navire et sans le moindre contact physique avec des *Alcyonidium* ou avec des engins de pêche. Une contamination par inhalation n'est pas exclue, notamment dans les marchés aux

poissons à la criée, et peut-être faut-il y voir l'explication de certaines rechutes. Une polypnée a été déclanchée expérimentalement chez des cobayes sensibilisés par inhalation, une pathologie respiratoire avec sensibilité pulmonaire chez les marins pêcheurs sans le moindre contact cutané avec les Bryozoaires est donc tout à fait possible.

## ETUDE EXPERIMENTALE DU POUVOIR SENSIBILISANT

Une étude expérimentale de l'aptitude d'*A. gelatinosum* à induire des réactions d'hypersensibilité a été menée en France par DUBOS (1977, 1980 a et b).

A partir d'un lot broyé de colonies de cette espèce, il a obtenu un surnageant 1, constituant la phase aqueuse, un culot de centrifugation qu'il a lui-même broyé dans du méthanol de façon à obtenir un surnageant 2, ensuite évaporé sous vide et constituant une phase méthanolique, et un deuxième culot ; celui-ci a aussi été broyé dans l'acétone pour constituer après évaporation sous vide une phase acétonique.

Les animaux d'expérience ont été des cobayes, répartis dans différents lots, certains servant de témoins et recevant une phase solvant contenant du chlorure de sodium et du méthanol, les autres ayant été sensibilisés par un mélange antigénique des trois phases selon la proportion 15 / 1 / 1 qui constitue l'extrait total. Trois voies de contact avec l'allergène ont été retenues : sous-cutanée, respiratoire et percutanée sur peau rasée. Chaque animal a fait l'objet de 3 tests sur chaque flanc, et observés au bout de 3, 24, 48 et 72 heures.

Les réactions ont été négatives chez les témoins, positives dans tous les autres cas, quels que soient la phase considérée et le mode de contact avec l'allergène. Ces résultats prouvent le très net pouvoir sensibilisant d'*A. gelatinosum*, induisant une sensibilité dite de type retardé ; l'hypersensibilité n'est immédiate que lorsque l'animal est soumis par inhalation de l'extrait total, sans doute parce que la manipulation implique l'emploi d'une forte dose de produit sensibilisant.

Une nécrose importante apparaît en cas d'injection intradermique des phases méthanolique et acétonique, même chez des animaux non préparés. Ceci a été interprété comme étant le résultat d'un effet cytolytique et traumatisant des extraits, les témoins ne manifestant pas cette réaction. Dans les conditions expérimentales, 4 contacts cutanés suffisent pour sensibiliser les animaux.

Sauf s'il y a eu effraction cutanée, aucune réaction ne se produit lors du premier contact avec l'allergène. Mais à partir du 2<sup>ème</sup> contact interviennent des cellules immuno-capacitaires (monocytes et lymphocytes) qui s'efforcent d'assimiler l'antigène introduit. On parle alors d'immunité à médiation cellulaire, qui peut être plus ou moins tardive. Il existe enfin une hypersensibilité immédiate, avec présence d'immunoglobulines au bout de quelques minutes et faisant intervenir des anticorps, qui correspond à une immunité de type précoce à support humoral ; l'acquisition des anticorps nécessite une période de latence de 7 à 10 jours.

L'inhalation d'un nébulisat d'*A. gelatinosum* entraîne une irritation non

spécifique de l'arbre respiratoire des animaux non sensibilisés, mais elle déclenche aussi une réaction d'hypersensibilité aux Bryozoaires par voie respiratoire ; une sensibilisation percutanée ne provoque pas de telles réactions. Cette observation confirme une possibilité de rechute par voie particulière.

Pour *Alcyonidium gelatinosum* comme pour *Electra pilosa*, une photosensibilité des patients a été démontrée. Elle se manifeste par l'augmentation des lésions pendant l'été, surtout par une atteinte plus importante des parties découvertes du corps, notamment le visage, le cou et les membres.

*Alcyonidium gelatinosum*, qui constitue bien un allergène authentique, induit deux types d'hypersensibilité qui répondent à des mécanismes différents et coexistent et se succèdent.

## QUELQUES PROBLEMES IRRESOLUS

A - Pourquoi les cas observés d'allergie à *A. gelatinosum* sont-ils limités géographiquement aux côtes de la Normandie et de la région sud de la Mer du Nord, alors que cette espèce remonte très haut en latitude, jusqu'aux mers polaires ? On peut supposer qu'il existe en Europe, outre *A. proliferans*, d'autres espèces cryptiques non allergènes; probablement certaines des " formes " et espèces affines décrites sur les côtes nord-américaines, du Japon et de Patagonie constituent-elles effectivement des espèces différentes d'*A. gelatinosum*.

B - L'augmentation de la surface géographique couverte par la maladie est-elle corrélée ou non à un accroissement de l'aire de distribution de l'espèce ? Serait-elle due (RYLAND 1967) à une modification de la composition locale du plancton nourricier des *Alcyonidium* en fonction des conditions climatiques ?

C - Quelle est l'origine de l'allergène : exogène ou endogène ? Et est-il unique ? CARLE & CHRISTOPHERSEN (1980a) n'ont extrait un allergène que de la seule fraction alcoolique de leur extrait. Or DUBOS (communication personnelle) a montré expérimentalement que la fraction aqueuse était également active. Ces données seraient en faveur de l'existence d'au moins deux agents allergènes.

D - Pourquoi les colonies d'*A. hirsutum* du Dogger Bank sont-elles les seules à être allergènes? Cette observation pourrait s'expliquer par le fait qu'*A. hirsutum* est un complexe d'espèces "jumelles". L'électrophorèse des formes isoenzymatiques de différentes populations européennes a révélé l'existence, sous ce même binome, de plusieurs espèces cryptiques, morphologiquement et anatomiquement indiscernables les unes des autres, mais ayant leur distribution géographique propre. Dans ce cas, seule celle présente sur le Dogger Bank, systématiquement distincte des autres, serait pathogène.

## CONCLUSION

Ce texte résume l'état actuel des connaissances sur les allergies de contact liées aux Bryozoaires, et reprend sous une forme destinée à publication, une partie du cours

professé dans le cadre du D.E.A. “ Les animaux venimeux et vénéreux : Systématique, biologie, toxicologie ”, par l’auteur au Muséum National d’Histoire de Paris. Il s’agit du seul enseignement spécifique actuellement consacré en Europe aux pathologies cutanées provoquées par les Bryozoaires.

Les résultats pour la plupart déjà anciens rappelés ici relèvent à la fois des recherches fondamentale et appliquée, théorique et médicale, dans un domaine qui reste d’actualité, et justifiant de continuer à motiver les chercheurs. La nature du (ou des) composé(s) allergène(s) nécessite un complément d’étude ; l’existence d’espèces cryptiques révélées par un polymorphisme électrophorétique, et dont certaines peuvent ne pas être allergènes, propose un champ d’études systématiques et biogéographiques très incomplètement exploité. Les données résumées ici visent à susciter un nouveau intérêt pour les études descriptives et expérimentales sur les Bryozoaires allergènes. Les *Alcyonidium* ne sont probablement pas les seuls Bryozoaires à zoarium charnu susceptibles d’être riches en molécules variées ; cela pourrait également être le cas des Flustrellidridae, très répandues sur nos côtes mais aussi sur une grande partie du globe, et qui sont souvent associées à différentes espèces encroûtantes d’*Alcyonidium*. Par ailleurs, les études sur le pouvoir pathogène d’*Electra pilosa* demanderaient à être poursuivies avec profit. Plus largement encore, rien ne s’oppose *a priori* à ce que d’autres genres et espèces non cités dans ce travail soient aussi susceptibles d’induire des pathologies cutanées.

Les objectifs de cette publication sont de remettre les Bryozoaires pathogènes à l’honneur, de susciter de nouvelles vocations et directions de recherches dans ce domaine, et enfin de laisser une trace écrite d’un enseignement spécialisé qui n’avait pas encore fait l’objet d’une publication synthétique.

## RÉFÉRENCES

- AUDEBERT C. & LAMOUREUX P. (1978). Eczéma professionnel du marin pêcheur par contact de Bryozoaires en Baie de Seine. *Ann. Dermatol. Venerol.* **105**: 187-192.
- BONNEVIE P. (1948). Fishermen’s “ Dogger Bank Itch ” an allergic contact-eczema due to the coralline *Alcyonidium hirsutum*, the “sea chervil”. *Acta Allergol.* **1**: 40-46.
- CARLE J.S. & CHRISTOPHERSEN C. (1980a). Dogger Bank Itch. The allergene is (2-hydroxyethyl)-dimethylsulfonium ion. *J. Amer. Chem. Soc.* **102**: 5107-5108.
- CARLE J.S. & CHRISTOPHERSEN C. (1980b). Dogger Bank Itch. 2. An allergen contact dermatitis. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **89**: 1087-1091.
- CARLE J.S. & CHRISOPHERSEN C. (1982). Dogger Bank Itch. 4. An eczema-causing sulfoxonium ion from the marine animal, *Alcyonidium gelatinosum* (Bryozoa). *Toxicon* **20**: 307-310.
- CARLE J.S., THYBO H. & CHRISTOPHERSEN C. (1982). Dogger Bank Itch. Isolation, structure, determination and synthesis of a hapten. *Contact Dermatitis* **8**: 43-47.



- DUBOS M., N'GUYEN T.L., LAMOUREUX P., DROUET J., EHRARD J.-P., NEVEUX Y., GOYFFON M. & NIAUSSAT P.M. (1977). *Alcyonidium gelatinosum* et réactions cutanées d'hypersensibilité. Résultats préliminaires d'une étude expérimentale. Bull. Soc. Path. Exotique **70**: 82-89.
- DUBOS M., SUSPERREGUI A., DROUET J. & NIAUSSAT P.M. (1980a). Etude expérimentale du pouvoir sensibilisant d'*Alcyonidium gelatinosum* (L.) (Bryzoaire marin). 1. Réactions d'hypersensibilité cutanée. Arch. Mal. Prof. **41**: 9-13.
- DUBOS M., SUSPERREGUI A., DROUET J. & NIAUSSAT P.M. (1980b). Etude expérimentale du pouvoir sensibilisant d'*Alcyonidium gelatinosum* (L.) (Bryzoaire marin). 2. Manifestations respiratoires. Arch. Mal. Prof. **41**: 75-77.
- FONTAINE T. (1982). L'eczéma de contact à *Alcyonidium gelatinosum* (Bryzoaire marin) existe aussi dans le Nord de la France. Thèse pour le Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine de Lille, 63 p.
- HALSTEAD B.W. (1978). Poisonous and Venomous Marine Animals of the World. Renewed edition, The Darwin Press Inc., Londres, 378 p.
- HONDT J.-L. D' (1997). La classification actuelle des Bryozoaires Eurystomes. Bull. Soc. Zool. Fr. **123**: 289-301.
- HONDT J.-L. D' (2001). *Flustrina* versus *Neocheilostomina* (Bryozoaires). Remarques sur la biosystématique aux niveaux supraspécifiques. Bull. Soc. Zool. Fr. **126**: 391-406.
- HONDT J.-L. D' & MOYANO H.I. (1979). Note sur trois espèces chiliennes du genre *Alcyonidium* (Bryozoa – Ctenostomida). Cah. Biol. Mar. **20**: 361-369.
- JEANMOUGIN M., LEMARCHAND-VENENCIE F., HOANG X.D., D'HONDT J.-L. & CIVATTE J. (1987). Eczéma professionnel avec photosensibilisation par contact de Bryozoaires. Ann. Dermatol. Venerol. **114**: 353-357.
- KORNPROBST J.M. (2005). Substances naturelles d'origine marine. Editions Toc & Doc, Paris, Paris, vol. 2 (1830 p.), **22** (Bryozoaires-Phoronidiens-Brachiopodes) : 1259-1284.
- NEWHOUSE M.L. (1966a). Dogger Bank Itch. Prog. R. Soc. Medecine **59**: 1119-1124.
- NEWHOUSE M.L. (1966b). Dogger Bank Itch : survey of trawlermen. Brit. J. Med. J. **1**: 1142-1145.
- RYLAND J.S. (1967). Polyzoa. Oceanogr. Mar. Biol., Ann. Rev. **5**: 343-369.
- SEVILLE R.H. (1957). Dogger Bank Itch. Report of a case. Brit. J. Derm. **69**: 92-93.
- TURK J.-L., PARKER D. & RUDNER E.J. (1966). Preliminary results on the purification of the chemical sensitizing agents in *Alcyonidium gelatinosum*. Proc. Roy. Soc. Med. **59**: 1122-1124.

WARABI K., NAKAO Y., MATSUNAGA S., FUKUYAMA T., KAN T., YOKOSHIMA S. & FUSETANI N. (2001). Dogger Bank Itch revisited: isolation of (2-hydroxyethyl) dimethylsulfoxonium chloride as a cytotoxic constituent from the marine sponge *Theonella* aff. *mirabilis*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **128**: 27-30.