

Étude de la contamination d'échantillons de requins par des biotoxines à l'aide de bio-essais sur souris et d'essais de cytotoxicité sur des cellules neuronales (neuro 2A) dans le cadre du programme Valorequin.

Synthèse

Les résultats des analyses portent sur 90 échantillons de requins (45 requins tigre, *Galeocerdo cuvier* et 45 requins bouledogue, *Carcharhinus leucas*) collectés au travers des projets Caprequin 2 et Valorequin. Ils ont été analysés, par un bio-essais souris et par un test de cytotoxicité sur neuroblastomes (Neuro 2A), dans la continuité d'une première acquisition qui a concerné 24 requins prélevés en 2012 et 2013.

Les captures et autopsies ont été organisées par le CRPMEM dans le cadre des projets « Valorequin » et « CapRequin 2 » et ont permis le prélèvement des 90 échantillons en 13 mois, entre le 15 janvier 2015 et le 17 février 2016.

Tous les échantillons ont été analysés par une combinaison de deux méthodes :

Le bio-essai souris est un test largement utilisé à ce jour pour détecter les neurotoxines dans les poissons, en particulier celles du groupe des ciguatoxines (CTXs). Bien décrit dans la littérature, il a été normalisé au niveau Français depuis juin 2012 par la Méthode Anses Maisons-Alfort CAT-NAT 10. Ce bio-essai évalue une toxicité globale, cependant il reste peu sensible. Il permet de détecter des niveaux élevés de toxines mais reste insuffisant pour détecter des concentrations de CTXs moyennes qui sont cependant considérées à risque pour l'Homme (cf. Anses 2014).

Le test cellulaire sur Neuro-2a, plus récent, présente une très forte sensibilité aux CTXs et permet la détection de faibles concentrations dans les échantillons de poissons.

La méthode d'extraction préalable à l'application des tests a dû être adaptée aux échantillons de requins (plus riches en graisses), cette matrice particulière peut interférer dans l'interprétation des résultats. Ce test s'est précédemment montré adapté dans la détection de CTXs chez le requin.

Les bio-essais souris sont négatifs pour les 90 échantillons testés. Certains signes atypiques ont été observés pour près de 85% des échantillons analysés. Ces effets pourraient être dus à la matrice.

Ces mêmes échantillons ont été testés par test cellulaire neuro 2A. Un échantillon de requin tigre (001-02072014) est positif avec une quantification de l'ordre de 0,02 - 0,10 $\mu\text{g eq P-CTX-1. Kg}^{-1}$ tissu frais. Cette concentration est supérieure à la limite considérée sans risque pour l'homme (0,01 $\mu\text{g eq P-CTX-1. Kg}^{-1}$), EFSA (2010).

Un deuxième échantillon, de requin bouledogue (002-30072015) a montré un effet de type ciguatoxine mais avec une interférence importante due à la nature grasse de l'échantillon (effet matrice). Cet effet matrice ne permet pas de confirmer et de quantifier la possible présence de toxines de type « ciguatoxines ».

Le reste des échantillons testés sur le modèle cellulaire ne montre pas de toxicité de type ciguatoxines.

Dans l'état actuel, les méthodes de détections montrent des limites de quantification (LQ) très variables pour des échantillons de requin, LQ qui restent supérieures au seuil considéré comme sans risque pour l'homme tel que préconisée par l'EFSA (2010).

Une révision des protocoles d'extraction serait nécessaire afin d'abaisser les limites de quantification (LQ). Cette adaptation méthodologique doit être considérée afin d'améliorer l'outil de détection.

La caractérisation des profils toxiques des deux échantillons positifs pourrait être envisagée par des méthodes physico-chimiques (spectrométrie de masse LC/MSMS), cela conformément aux recommandations de l'expertise Anses (2014).