

CONTAMINATION DES ASCIDIES PAR L'ANATOXINE-A

RONEL BIRÉ

LABORATOIRE DE SÉCURITÉ DES ALIMENTS
UNITÉ PESTICIDES ET BIOTOXINES MARINES

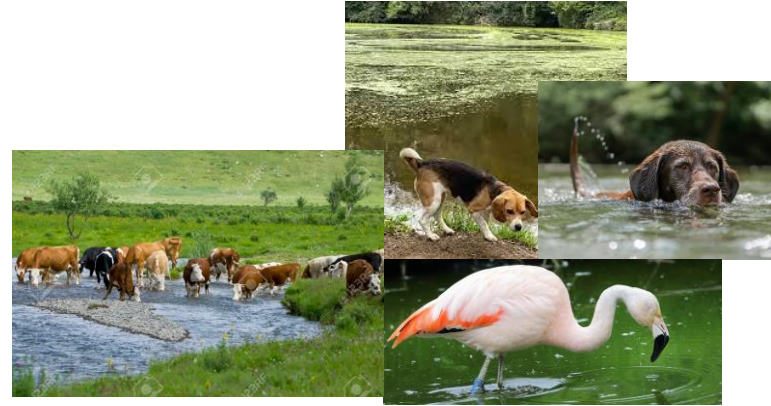
CONNAÎTRE, ÉVALUER, PROTÉGER

1 — Cas d'intoxications liés à la présence d'ATX

Cas d'intoxications liés à la présence d'ATX – à l'international

À propos des cas d'empoisonnement signalés jusqu'à présent

- Chez les animaux : neurotoxicoses canines (France, Pays-Bas, États-Unis, Nouvelle-Zélande, Allemagne) et flamants roses (Kenya)
- Chez l'homme : controversé ! (1 décès en juillet 2002 dans le Wisconsin ; août 2021, 3 décès dans le sud du parc national de Yosemite)



Le Monde

Après un été caniculaire en Californie, des algues toxiques soupçonnées dans la mort d'une famille de randonneurs

Avec l'été qu'a vécu l'ouest des États-Unis, les cyanobactéries se sont multipliées dans les rivières. Pour la première fois, l'anatoxine-a est mise en cause dans un décès humain.

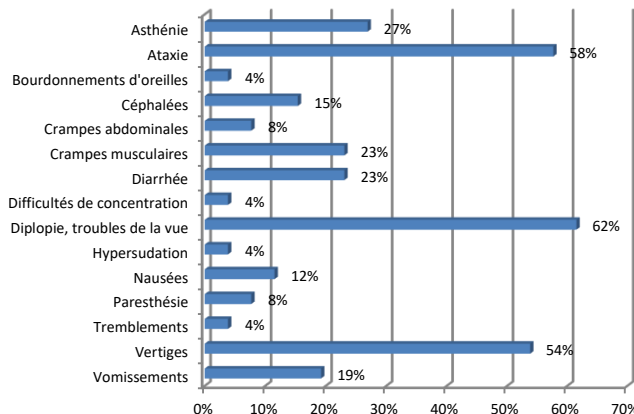
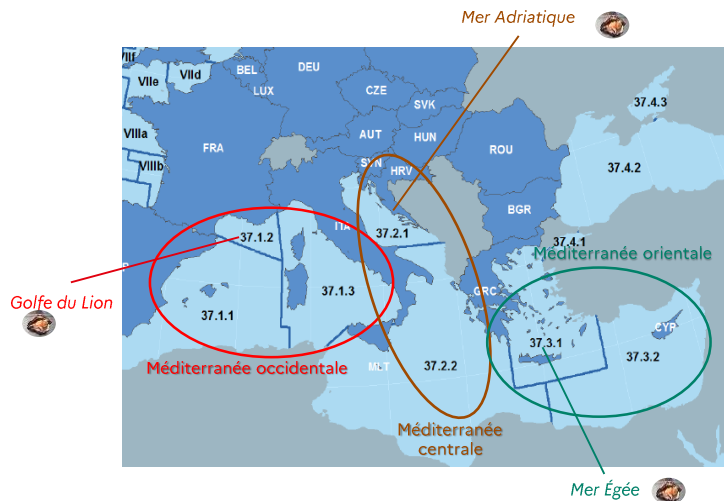
Par Corine Lesnes (San Francisco, correspondante)



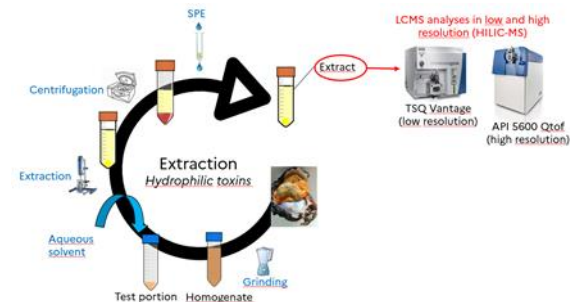
Cas d'intoxications liés à la présence d'ATX – en France



- Cas d'intoxication liés à la consommation de violets du genre *Microcosmus*
- Origine des violets : Méditerranée occidentale, centrale et orientale



- Syndrome de type cérébelleux
- 21 cas colligés entre janvier 2011 et décembre 2022 (31 personnes, 21 F + 10 H, âgées de 17 à 80 ans)
- Mise en évidence d'anatoxine-a (ATX) dans les violets impliqués ou non dans des cas de TIA/TIAC
- Présence d'ATX dans la chair et le « jus » (exsudat contenu dans le violet)
- Concentrations en toxine très variables d'un animal à un autre

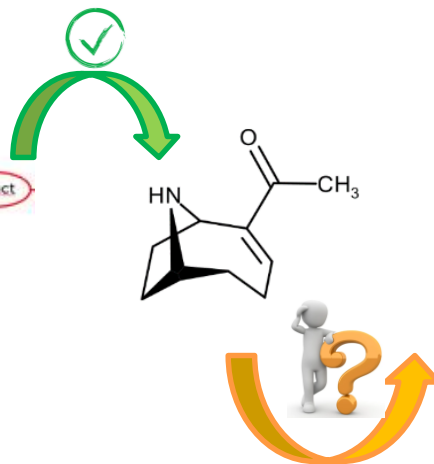
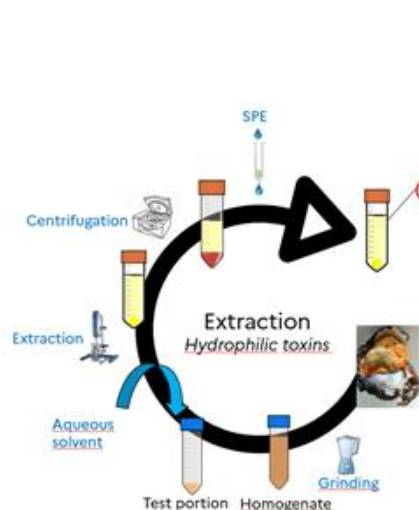


Quid de la contamination d'autres organismes marins ?

Cas d'intoxications liés à la présence d'ATX – en France

- Présence non équivoque d'ATX associées aux cas d'intoxications alimentaires humaines liées à la consommation de violets du genre *Microcosmus*
- De nombreux autres contaminants (y compris des analogues de l'ATX) ont été recherchés mais n'ont pas été trouvés par LC-HRMS

Toxin	Formula	Mass (Da)	Extraction Mass [M + H] ⁺ (Da)
ATX-a	C10H15NO	165.11536	166.12264
hATX-a	C11H17NO	179.13101	180.13829
Carboxy ATX-a	C11H15NO3	209.10519	210.11247
Carboxy hATX-a	C12H17NO3	223.12084	224.12812
Carboxy dihydroATX-a	C11H17NO3	211.12084	212.12812
N-methyl ATX a	C11H17NO	179.13101	180.13829
(10S)-ATX alcohol	C10H17NO	167.13101	168.13829
(10R)-ATX alcohol	C10H17NO	167.13101	168.13829
nor ATX-a	C9H13NO	151.09971	152.10699
Dihydro ATX-a	C10H17NO	167.13101	168.13829
Dihydro hATX-a	C11H19NO	181.14666	182.15394
Epoxy ATX-a	C10H15NO2	181.11028	182.11756
Epoxy hATX-a	C11H17NO2	195.12593	196.13321
ATX-(a)s	C7H17N4O4P	252.09874	253.10602
Phe	C9H11NO2	165.07898	166.08626



Existe-t-il une corrélation entre la présence d'ATX et le syndrome cérébelleux ?

Cas d'intoxications liés à la présence d'ATX – en France



Acute toxicity of dihydroanatoxin-a from *Microcoleus autumnalis* in comparison to anatoxin-a

Jonathan Puddick^{a,*}, Roel van Ginkel^a, Carrie D. Page^a, J. Sam Murray^a, Hannah E. Greenhough^a, Joel Bowater^a, Andrew I. Selwood^a, Susanna A. Wood^a, Michèle R. Prinsep^a, Penelope Truman^a, Rex Munday^{a,1}, Sarah C. Finch^a



Article

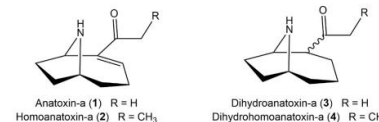
Confirmation Using Triple Quadrupole and High-Resolution Mass Spectrometry of a Fatal Canine Neurotoxicosis following Exposure to Anatoxins at an Inland Reservoir

Andrew D. Turner^{1,*}, Florence R. I. Turner^{1,2}, Martha White^{1,2}, David Hartnell¹, Claire G. Crompton³, Nicola Bates⁴, Jan Egginton¹, Liz Branscombe¹, Adam M. Lewis¹ and Benjamin H. Maskrey¹

- dhATX moins toxique que l'ATX par voie *ip* (LD₅₀ souris 0,73 et 0,23 mg/kg respectivement)
- Mais dhATX plus toxique *per os* (gavage et alimentation)

	Gavage	Alimentation
ATX	10,6 mg/kg	25 mg/kg
dhATX	2,6 mg/kg	8 mg/kg

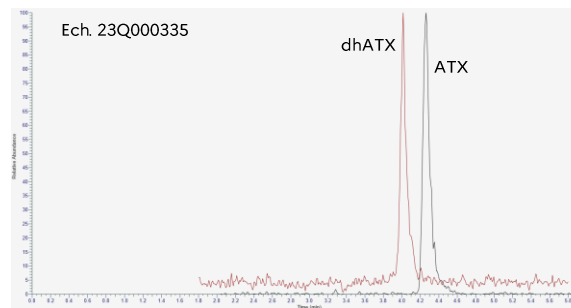
Annotations: $\times 4$ (ATX vs dhATX Gavage), $\times 3$ (ATX vs dhATX Alimentation)



- Neurotoxique canine en Angleterre (1 chien)
- Analyse de fluides biologiques : sang, caillot de sang, urine, contenu stomacal
- Absence de toxine dans le sang et caillot de sang mais **présence de conc. importantes de dhATX et d'ATX dans l'estomac et l'urine (dhATX >> ATX)**

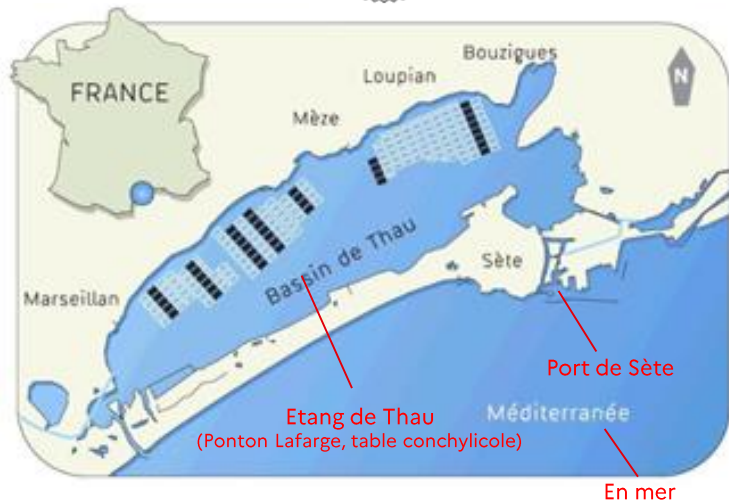
Quid de la présence de dhATX dans les violets ?

- Ré-analyse des échantillons de violets en cours
- Présence concomitante de dhATX et d'ATX dans les premiers échantillons analysés



2 — Les ATX s'accumulent-elles dans d'autres organismes marins ?

Projet Maratox : Contamination des violets et autres organismes marins par les ATX



- 6 campagnes de prélèvements (octobre 2022 – juillet 2023)
- 4 sites (2 dans l'étang de Thau, port de Sète et en mer)
- Comptage des espèces phytoplanctoniques présentes
- Plusieurs espèces prélevées
 - ✓ Tuniciers (violets)
 - ✓ Bivalves (moules, huîtres, pétoncles)
 - ✓ Polyplacophores (chitons)
 - ✓ Gastéropodes (murex, turbo, nasse, crépidule, patelle...)
 - ✓ Crustacées (cirripèdes, crabes...)
 - ✓ Echinodermes (oursins, étoiles de mer, ophiures, holothuries)
 - ✓ Anémones
 - ✓ Ascidies
 - ✓ Polychètes



Projet Maratox : Contamination des violets et autres organismes marins par les ATX

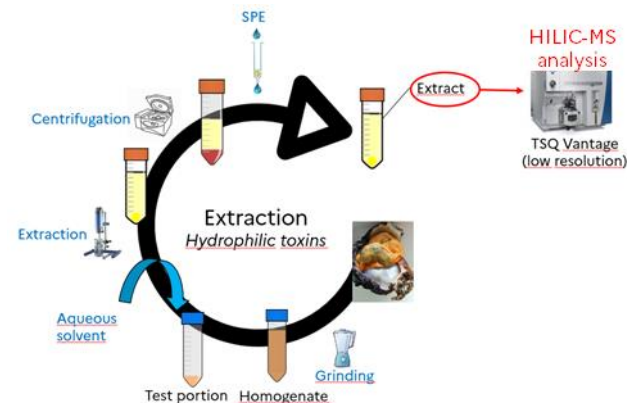
- Analyse des différents échantillons (C1 à C6) avec 1 contrôle positif par série d'analyse
- Présence d'ATX dans 5 échantillons (campagnes 3 et 4)

Organismes	Campagne	[ATX] ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Violet (23Q002345)	3	38,2
Violet (23Q002342)	3	18,5
Violet (23Q002343)	3	<LQ
Violet (23Q003607)	4	<LQ
Violet (23Q003636)	4	<LQ

LQ : 17 $\mu\text{g}/\text{kg}$

- ✓ Présence d'hATX dans 1 échantillon d'huître

Organisme	Campagne	[hATX] ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Huître (23Q002373)	3	45,1

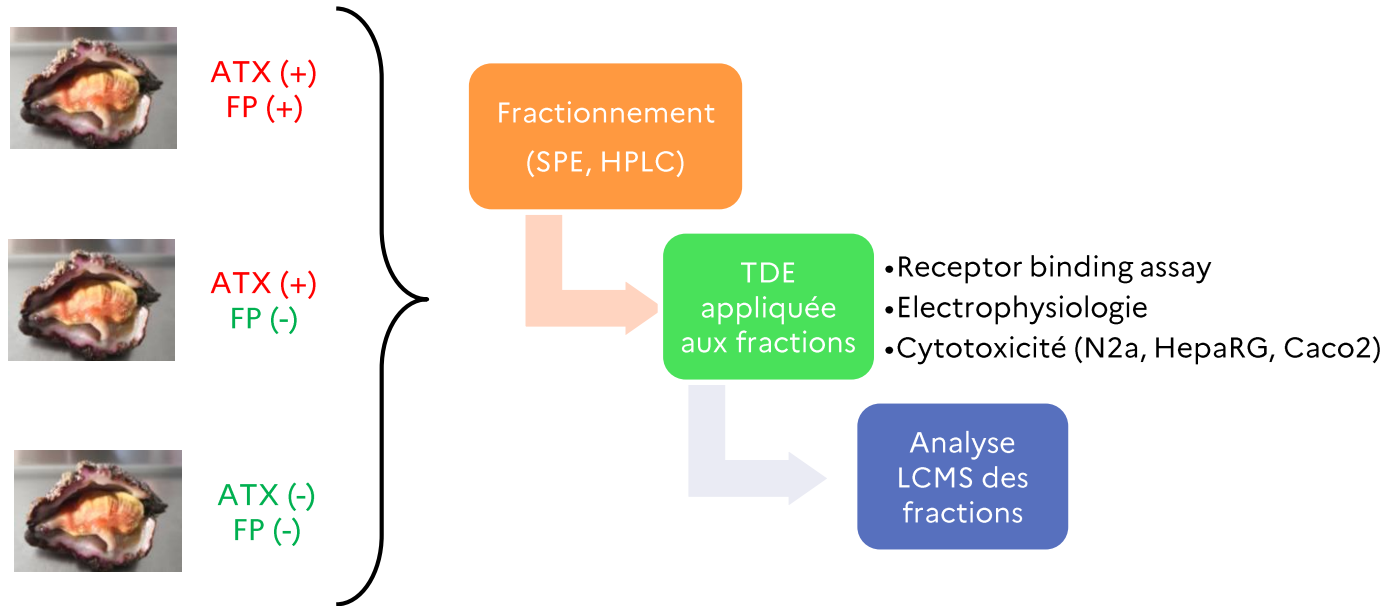


- Ré-analyses des échantillons contaminés en ATX pour rechercher la présence de dhATX

3 — Y a-t-il un lien entre ATX et la symptomatologie observée ?

Etude du lien de causalité entre la présence d'ATX dans les figures de mer et les cas d'intoxication, par une approche fonctionnelle et cytotoxique (AMI DSP)

Toxicité dirigée par l'effet

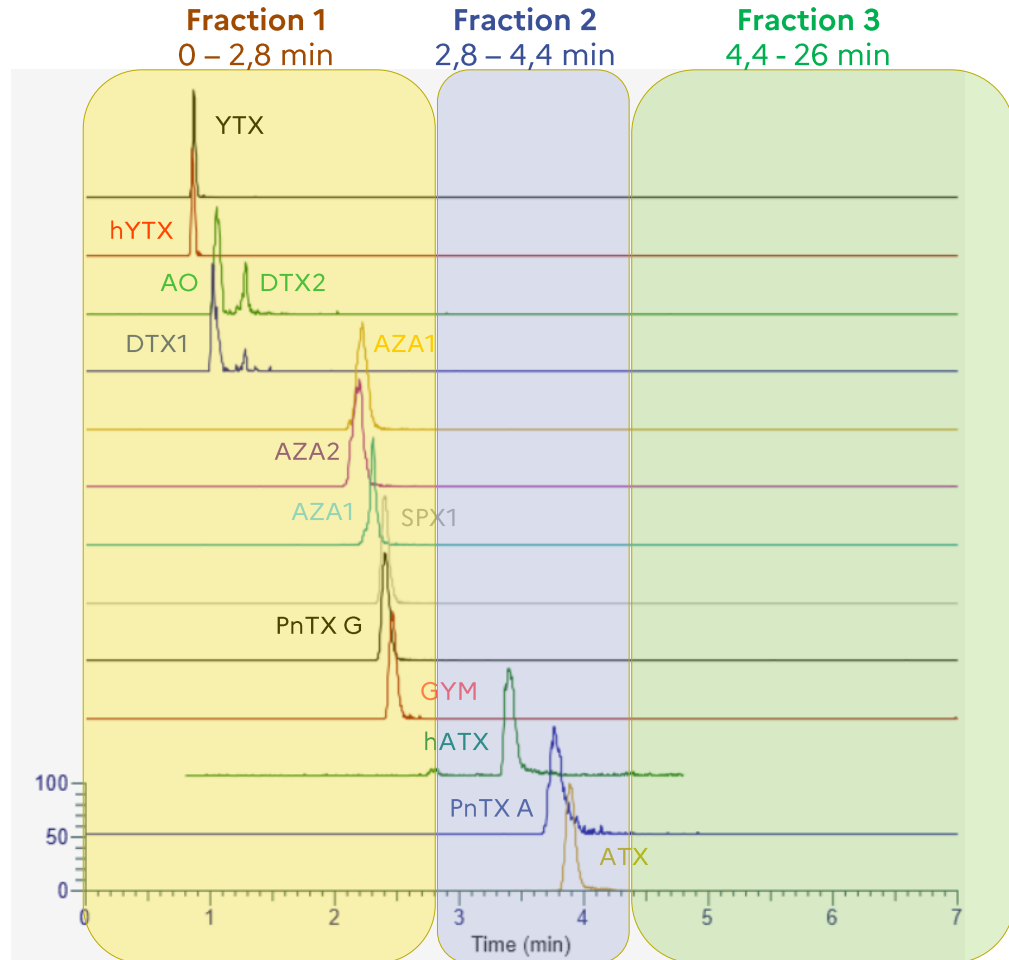


- Détermination du profil d'élution des toxines (lipophiles et hydrophiles) dans nos conditions chromatographiques (HILIC-MS/MS)
- Identification de 3 fractions dont une contenant ATX, dhATX et hATX (mais co-élution PnTX-A)
- Collecte des fractions pour trois échantillons contaminés ou non et impliqués ou non dans des cas de TIAC



ATX (+) FP (+) Mer adriatique	ATX (+) FP (-) Mer adriatique	ATX (-) FP (-) Etang de Thau
--	--	---------------------------------------

- Transmission de ces fractions au CEA et à l'Anses Fougères pour analyses





anses

Thomas Bertin
Inès Dom
Vincent Hort
Caroline Desbourdes
Marion Peyrat
Yahya M'Hakkak
Blandine Descamps
Jana Marcin
Nathalie Arnich
Sandra Sinno-Tellier
Valérie Fessard
Rachelle Lancelleur
Marina Nicolas



Hadrien Blayac



CapTV

Corinne Schmidt
Luc De Haro



Romulo Araoz