



Rapport annuel d'activité, année 2024

Laboratoire National de Référence

Biotoxines marines

Nom du responsable du LNR

Vincent HORT

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de sécurité des aliments -- site de Maisons-Alfort

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Unité Pesticides et Biotoxines Marines (UPBM)

Les faits marquants de l'année

L'année a été marquée par une activité intense sur la thématique des ciguatoxines : des toxines connues pour s'accumuler dans les poissons et entraîner une intoxication alimentaire appelée la ciguatera. Il s'agit de l'intoxication d'origine non bactérienne associée à la consommation de poissons la plus répandue à travers le monde. Suite à une demande expresse de la DGAI en juillet 2022 (Direction Générale de l'Alimentation), le Laboratoire National de Référence pour les Biotoxines Marines (LNR BM) a maintenu ses efforts en 2024 pour finaliser le développement d'une approche alternative à la méthode officielle par bio-essai sur souris. Pour des raisons notamment éthiques, cette transition était nécessaire. La méthode alternative repose sur un test de viabilité de cellules de neuroblastomes de souris (test Neuro-2a). Ainsi, en 2024, le LNR BM a finalisé la mise en place de cette méthode, et l'a publié sur le site internet de l'agence. Un essai inter-comparaison a également été organisé avec l'autre laboratoire impliqué dans la surveillance au niveau national. Ces actions menées ont permis à la DGAI d'initier les démarches d'officialisation de cette méthode, et aux laboratoires de débuter les analyses prévues dans le cadre d'un plan de surveillance exploratoire impliquant des prélèvements effectués aux Antilles (Guadeloupe, Guyane et Martinique) et dans l'Océan Indien (Île Maurice et La Réunion). Au-delà des actions menées en lien avec la mise en œuvre de ce test cellulaire, notre laboratoire continue à s'investir dans le développement d'une méthode chimique par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) afin de pouvoir caractériser les profils toxiniques des échantillons contaminés par ces toxines. Le nombre de standards et de matériaux de référence étant réduit, la mise en place de cette méthode représente un véritable challenge. Il est également important de noter notre participation au projet EFSA Eurocigua II et notre co-présidence du eWG du Codex Committee on Contaminants in Foods (CCCF) du Codex Alimentarius qui a permis de produire et d'adopter un code de pratiques pour prévenir ou réduire la ciguatera (CXC 83-2024). Le LNR a également participé au groupe de travail (GT) toxines naturelles de la Direction des Alertes et des Vigilances sanitaires (DAVS) de l'Anses, et à des travaux visant à répondre à une saisine de la DGAI afin de permettre à l'autorité compétente de mettre à jour l'arrêté n°2022/1249/PREF/SGAR/MAP (annexe 3) qui restreint ou interdit la commercialisation de certaines espèces de poissons au regard du risque d'intoxication. La dynamique engagée sur cette thématique des ciguatoxines s'inscrit dans la durée, et devra se poursuivre au-delà de 2024. L'année 2024 a également été marquée par le départ à la retraite de la précédente responsable du LNR qui occupait ce poste depuis 2014. Un nouveau responsable et une nouvelle responsable adjointe ont été nommée en janvier 2024.

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

- Analyse des ciguatoxines par un test de viabilité des cellules de neuroblastome de souris (test N2a) : le déploiement de cette méthode s'est poursuivi en 2024. Ces travaux répondaient aux fortes attentes de la DGAI sur cette thématique. Ils se sont traduits par la publication de cette méthode sur le site internet de l'Agence.
- Méthode chimique par chromatographie liquide d'interactions hydrophiles couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HILIC-MS/MS) : cette méthode, mise en œuvre dans le cadre du réseau de veille d'émergences des biotoxines marines dans les coquillages (toxines du groupe de la saxitoxine, tetrodotoxines et cyanotoxines hydrophiles), a fait l'objet de travaux d'optimisation en 2024. Nous disposons à présent d'une méthode autrement plus robuste. La validation de cette méthode optimisée est prévue pour 2025.

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

1 méthode(s)

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Méthode ANSES / LSAliments / LSA-INS-1618 – Version 0 : Détermination des ciguatoxines dans la chair de poisson par test de cytotoxicité sur lignée cellulaire Neuro-2a.

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse**3.1 Analyses officielles de première intention****Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année**

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Suite à la décision du Bureau des Produits de la Mer et d'Eau Douce (BPMED) de la DGAI, la totalité des analyses de première intention sont réalisées par les laboratoires agréés pour les toxines ASP, PSP et lipophiles. Le LNR BM peut néanmoins être amené à réaliser des analyses officielles dans certains cas spécifiques, comme, par exemple, pour la recherche des ciguatoxines dans la chair de poissons, des plans de surveillance exploratoires, ou encore des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).

3.2 Analyses officielles de seconde intention**Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année**

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de seconde intention

Pas d'analyses officielles de seconde intention dans le domaine des biotoxines marines.

3.3 Autres analyses**Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR**

546 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- Détermination des toxines hydrophiles (toxines du groupe de la saxitoxine, tetrodotoxines et cyanotoxines hydrophiles) par Chromatographie Liquide à Interactions Hydrophiles couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem (HILIC-MS/MS) dans le cadre du dispositif veille d'émergence (EmergTox) : 129 analyses (129 échantillons avec 29 résultats/échantillon).
- Détermination des ciguatoxines par test cellulaire Neuro2a : 53 analyses (53 échantillons avec 1 résultat/échantillon).
- Détermination des ciguatoxines par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) dans le cadre d'un essai d'inter-comparaisons, et d'analyses d'échantillons : 142 analyses (142 échantillons avec entre 1 et 40 résultats/échantillon).
- Projet de recherche « Evaluation of ecoToxicological effects of cyanotoxins and emerging cyanopeptides on Model organisms » (PNR EST TOXMODEL) : 112 analyses (112 échantillons avec 2125 résultats/échantillon).
- Etude de la contamination des violettes et autres organismes marins par une cyanotoxine neurotoxique, l'anatoxine-a (AMI MARATOX) : 56 analyses (56 échantillons avec 3 résultats/échantillon).

- Etude de la stabilité aux micro-ondes des microcystines et recherche de leurs produits de dégradation : 54 analyses (27 échantillons avec 6 résultats/échantillon + 27 échantillons avec 1 résultat/échantillon).

La variation du volume d'analyses entre 2023 et 2024 est de -44 %; La réduction du nombre de doctorants sur la thématique des biotoxines marines / cyanotoxines, et la perte d'un poste sur les activités de référence biotoxines marines en 2024 expliquent, en partie, cette diminution. De plus, le test Neuro-2a, nouvellement développé, et au cœur de notre activité, est une méthode relativement longue par comparaison aux autres méthodes mises en œuvre par notre laboratoire. L'obtention d'un résultat d'analyse demande un investissement en temps conséquent. Il est toutefois intéressant de noter qu'entre 2018 et 2022, le nombre d'analyses "non-officielles" réalisées avait été multiplié par 4 en raison des travaux de recherche menés. Nous retombons à présent sur des chiffres comparables à 2018, puisqu'entre 2022 et 2024, le nombre d'analyses a été réduit par 5.

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Le LNR a participé aux 3 EILA organisés par le LRUE :

- EILA Détermination des toxines lipophiles par LC-MS/MS : 2 échantillons avec 16 résultats/échantillon.
- EILA Détermination de l'acide domoïque par CLHP-UV : 2 échantillons avec 2 résultats/échantillon.
- EILA Détermination des toxines du groupe de la saxitoxine par CLHP avec oxydation pré-colonne au peroxyde et au periodate : 2 échantillons avec 11 résultats/échantillon.

Le LNR a également participé à deux EILA proposés par Quasimeme (fournisseur appartenant à l'Université de Wageningen, NL) :

- EILA Détermination de l'acide domoïque par CLHP-UV : 3 échantillons avec 2 résultats/échantillon.
- EILA Détermination des toxines du groupe de la saxitoxine par méthode chimique (CLHP avec oxydation pré-colonne au peroxyde et au periodate : 3 échantillons avec 12 résultats/échantillon.

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor, CEN, ISO...).

- Membre du groupe de travail du Service Commun des Laboratoires (Ministères de l'économie et des finances) et de l'ANSES : "Matériaux de référence".
- Participation active au groupe de travail de la Direction des Alertes et Vigilances Sanitaires (DAVS) « Vigilance des toxines naturelles ».
- Membre du groupe Miroir 14 : Biotoxines Marines de l'Afnor, Commission V03B - Méthodes d'analyse horizontales des produits alimentaires avec une forte activité due à la révision de plusieurs méthodes d'analyses des biotoxines marines.
- Membre du groupe de travail WG 14 : Biotoxines Marines, au Comité Européen de Normalisation CEN TC275 avec une forte activité due à la révision de plusieurs méthodes d'analyses des biotoxines marines.
- Membre du groupe de travail du LRUE sur l'établissement d'un protocole harmonisé pour l'analyse des ciguatoxines par le test de viabilité de cellules de neuroblastomes de souris (N2a).
- Contribution au travail du CCMAS (Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling).
- Membre du comité de pilotage de la surveillance des coquillages vis-à-vis des biotoxines marines.
- Membre du comité de pilotage du réseau de veille d'émergence des biotoxines marines dans les coquillages (EmergTox).
- Contribution aux travaux visant à développer une interface d'utilisation et de valorisation des données collectées par le réseau de veille EMERGTOX (saisine 2023-AST-005 – Auteur : DGAI – Pilotée par l'UME avec UERALIM en appui).

Le temps consacré aux activités d'expertise (membre des groupes de travail internes et externes) et des activités auprès de commissions de normalisation en 2024 est de 0,3 ETP.

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

1 dossier(s)

Détail de ces activités et estimation du temps consacré

Afin d'attribuer un agrément à un laboratoire dans le cadre d'un appel à candidature, notre laboratoire a été amené à étudier le dossier du laboratoire en question, et à rendre un avis sur sa compétence. Le temps consacré à l'étude de ce dossier en 2024 est de 0,004 ETP.

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Le LNR a de nombreux échanges, sur une base régulière et suivie, avec l'autorité compétente sur des items qui requièrent sa compétence (aspects analytiques, stratégies méthodologiques, choix

normatifs, suivi et/ou sollicitation des laboratoires du réseau, requêtes auprès du LRUÉ ou des LNR des autres Etats membres). En décembre 2023, la DGAI a adressé à l'Anses une saisine visant à rédiger un avis pour identifier et décrire les poissons associés aux cas de ciguatera survenus ces dernières années dans les Antilles françaises. L'avis qui sera rendu, permettra au gestionnaire de mettre à jour l'arrêté n°2022/1249/PREF/SGAR/MAP (annexe 3) qui restreint ou interdit la commercialisation de certaines espèces de poissons au regard du risque d'intoxication. Cette saisine repose sur les données de ciguatera collectées depuis 2002 par le LNR. Au total, 73 cas de ciguatéras pour lesquelles les poissons incriminés dans ces intoxications alimentaires sont recensés. Parmi ces informations figure notamment : les symptômes apparus chez les personnes intoxiquées, la zone de pêche des prélèvements, la partie des poissons consommée, la quantité ingérée, etc. Ces cas proviennent de Martinique et de Guadeloupe, et ont fait l'objet d'analyses par bio-essai sur souris au sein du LNR. Une identification ADN des espèces de poissons impliqués dans ces intoxications a également été réalisée par le SCL 13. En 2024, un travail conséquent a été réalisé afin d'harmoniser les pratiques au sein de notre réseau concernant la saisie des résultats dans SIGAL. De mai à novembre, de multiples échanges ont eu lieu avec la DGAI, les laboratoires agréés, l'IFREMER, et l'unité CONTAMINE de l'Anses afin d'obtenir un consensus. Ce travail s'est traduit par la révision de 3 fiches de plans de la DGAI. Ce travail répond aux objectifs du dispositif Qualiplan, qui vise à améliorer la qualité des données des plans de surveillance et de contrôle (PS/PC).

Le temps consacré aux activités d'appui à la tutelle en 2024 est de 0,5 ETP.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

10 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

1 EILA

Nom de l'EILA

Détermination des toxines de la famille de la saxitoxine dans les coquillages selon la norme NF EN 14526 (campagne 2023, avec envoi du rapport début 2024)

L'EILA est-il réalisé sous accréditation (norme NF EN ISO/CEI 17043) ?

Non

Nombre de laboratoires participants

5 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

5 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Ce réseau, constitué en 2022, n'a pas évolué depuis (5 laboratoires). L'historique est trop court pour pouvoir noter une réelle tendance en terme de performances. Néanmoins, comme en 2022, nous constatons que l'ensemble des laboratoires ont obtenus une performance satisfaisante. Le maintien de ce niveau de performance devra se poursuivre dans les années à venir.

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires**Actions mises en œuvre**

Organisation d'un essai inter-comparaison (EIC) bilatéral pour la détermination des ciguatoxines (CTXs) dans les poissons par test cellulaire Neuro-2a.

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

0,5 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

Organisation d'un atelier avec les laboratoires de notre réseau en mai 2024 afin d'harmoniser les pratiques pour la saisie des données dans SIGAL. Parmi les sujets traités figurait :

- Le calcul des sommes de toxines réglementées lorsque les données d'une ou plusieurs toxines individuelles entrant dans le calcul de cette somme est/sont censurée(s).
- L'expression des LD et LQ de sommes de toxines.
- le nombre de décimales requis pour le rendu des résultats.

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

(**) Au sens de la norme 17043

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
EmergTox	Détection des biotoxines marines dans les coquillages dans le cadre du nouveau dispositif de veille d'émergence	en cours
TOXMODEL	Evaluation des effets écoToxicologiques de cyanopeptides émergents chez des organismes Modèles dulcicoles	en cours
EUROCIGUA2	An integrated approach to characterise the human health risks of ciguatoxins in fish in Europe	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

10. Relations avec le LRUE

Détention par l'Anses d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE hors Anses dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du LRUE et nom de l'organisation détenant le mandat

Monitoring of marine biotoxins, AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición)

Le LNR a participé à l'atelier organisé par le LRUE

Oui

Le LNR a participé à une/des formation(s) organisée(s) par le LRUE

Pas de formation proposée

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Nous n'avons pas posé de question spécifique, mais, avec quelques autres pays, nous avons manifesté notre vif intérêt pour participer, en 2025, à un essai inter-laboratoires pour l'analyse des PSP par HILIC-MS/MS, ainsi qu'à un essai de comparaison inter-laboratoires sur l'analyse des ciguatoxines par test cellulaire Neuro-2a. Ce sera la première fois que des essais inter-laboratoires seront organisés par le LRUE pour ces deux méthodes d'analyse, appelées à court ou moyen terme à remplacer celles mises en œuvre jusqu'ici.

Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler

L'équipe de direction du LRUE en place depuis 2022 a été remplacée par une nouvelle équipe en 2024. Les activités sont toujours portées par le même organisme, à savoir l'institut océanographique espagnol (CSIC). L'atelier 2024 qui se tenait en Suède a été l'occasion de rencontrer cette nouvelle équipe. Ces dernières années, le pays hôte de l'atelier du LRUE change chaque année, l'accueil étant assuré par les LNR. Après la Grèce et la Suède, il a été décidé d'organiser le prochain atelier du LRUE à Maisons-Alfort, les 2 et 3 octobre 2025.

11. Détenion d'autres mandats de référence au niveau international**Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences**

Aucun

ANNEXES

Liste des publications et communications 2024 dans le cadre du mandat de LNR Biotoxines Marines

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont publiées.

Article

Bouteiller, Pierre, Ronel Biré, Amanda J. Foss, Thierry Guérin, et Emilie Lance. 2024. « Analysis of total microcystins by Lemieux oxidation and liquid chromatography-mass spectrometry in fish and mussels tissues: Optimization and comparison of protocols ». *Science of The Total Environment* 950 (novembre):175339. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175339>.

Hort, Vincent, et Sophie Bourcier. 2024. « Discovery of a Series of Portimine-A Fatty Acid Esters in Mussels ». *Harmful Algae* 134 (avril):102621. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102621>.

Conférence et webinaire

Hort, Vincent. 2024. « Actualités du LNR et du LRUE Biotoxines Marines » *Journées REPHY 2024*, 4-5 décembre 2024, Nantes, France (France).