

# Projet BIOS : Approche métabolomique pour la mise en évidence de biomarqueurs de (non)-exposition des moules et des huîtres aux phycotoxines

Valentin Derrien<sup>1</sup>, Yann Guitton<sup>2</sup>, Amélie Derrien<sup>3</sup>, Virginie Le Razavet<sup>4</sup>, Florence Mondeguer<sup>1</sup>, **Damien Réveillon<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Ifremer, PHYTOX, laboratoire METALG, F-44000 Nantes, France

<sup>2</sup>Oniris, INRAE, LABERCA, 44300 Nantes, France

<sup>3</sup>Ifremer, Unité Littorale, Laboratoire Environnement Ressources - Bretagne Occidentale, F-29185 Concarneau, France

<sup>4</sup>Ifremer, Plateforme Mollusques Marins de Bouin, F-85230 Bouin, France

## Contexte et résumé

- Certaines microalgues produisent des toxines pouvant contaminer les bivalves exploités
- Des réseaux de surveillance (REPHY-REPHYTOX) et de veille d'émergence (EMERGTOX) ont été mis en place → analyses ciblées par LC-MS/MS d'un nombre prédéfini de toxines
- Une autre stratégie pourrait consister à considérer non pas les causes mais les conséquences d'une contamination des bivalves par les phycotoxines → intérêt de la métabolomique ?

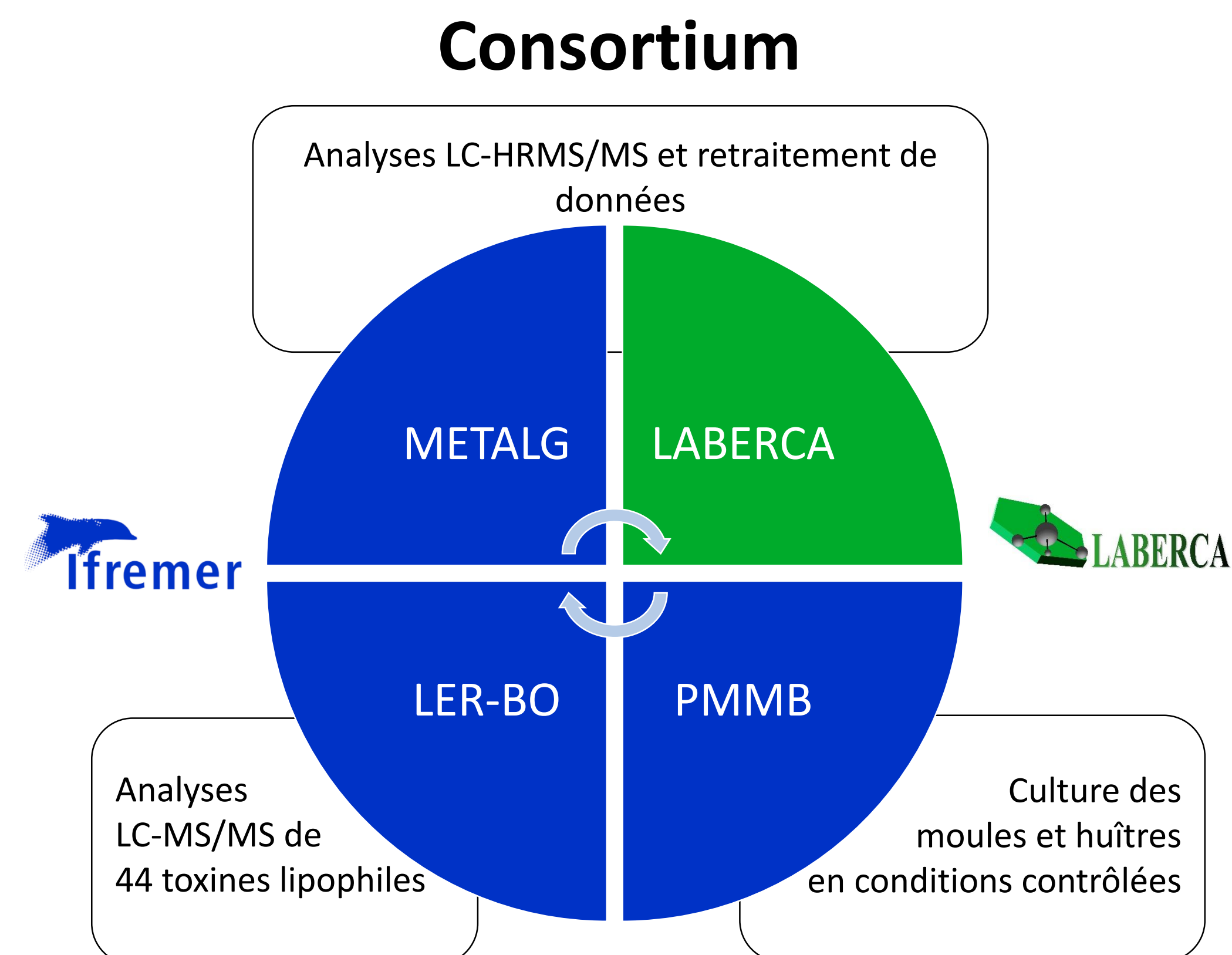
« Analyse de l'ensemble des métabolites contenus dans un système biologique, qui caractérisent son état physiologique en tant qu'ultime réponse à un stress »

Innover pour l'évaluation de la salubrité des bivalves via une double approche : métabolomique et réseaux moléculaires

Mettre en évidence des **BIO**marqueurs de « Santé » caractéristiques d'une (non)-exposition aux phycotoxines dans les coquillages

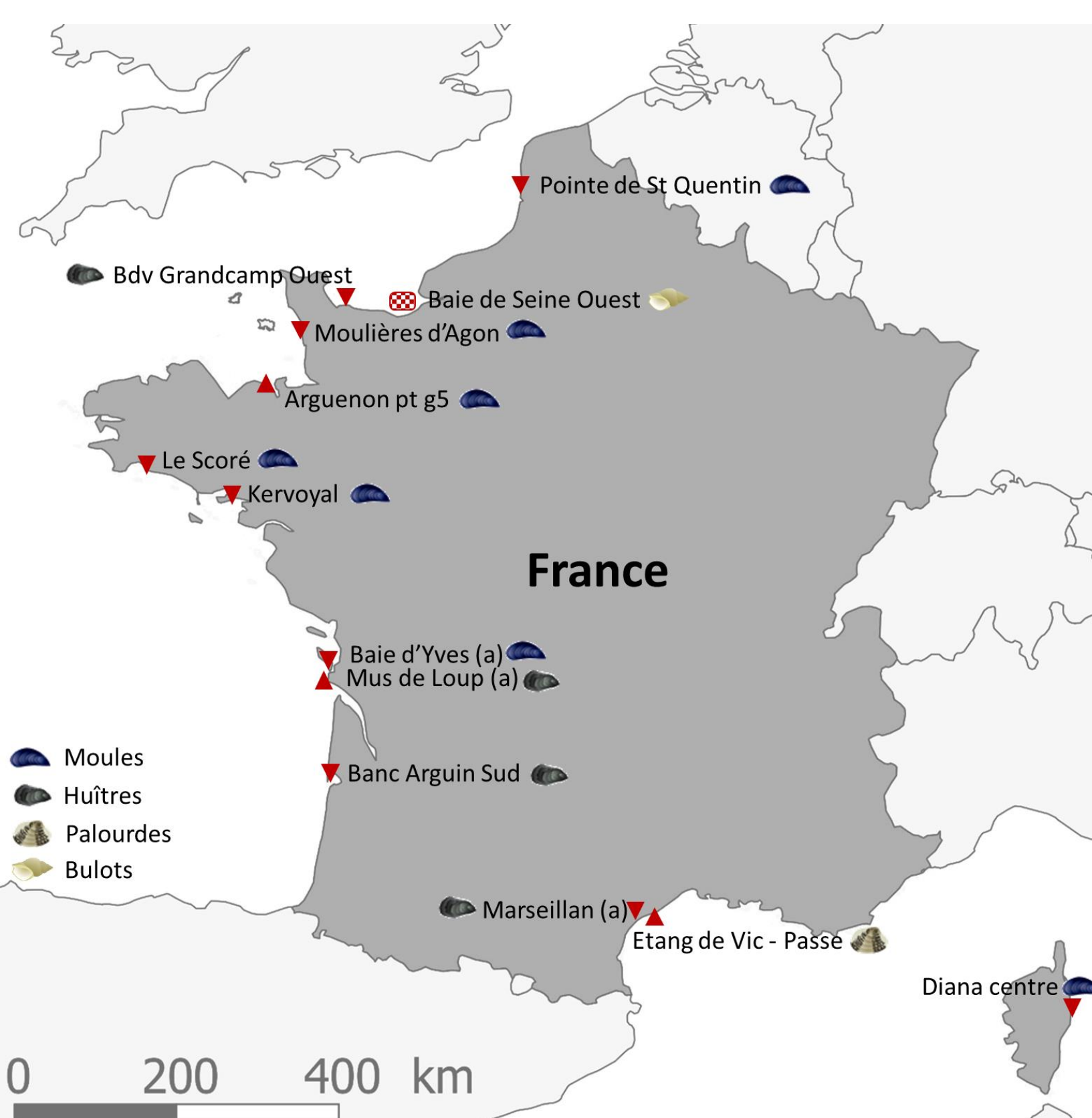
→ S'appuyer sur les dernières générations d'outils de spectrométrie de masse et de bioinformatique, avec la plate-forme de métabolomique d'un partenaire leader dans la sécurité chimique de l'aliment (LABERCA).

→ Stratégie issue de résultats préliminaires suggérant des métabolites caractéristiques d'une non-exposition dans des (Mondeguer et al., 2012) et sur la mise en place d'une méthode de surveillance basée sur des biomarqueurs issus d'analyses métabolomiques non ciblées par le LABERCA (accréditée ISO17025)



## Approche métabolomique

### 1) Echantillons et design expérimental



Sites d'échantillonnage mensuel du dispositif EMERGTOX

#### Echantillons :

S'appuyer sur :

→ Le dispositif EMERGTOX :

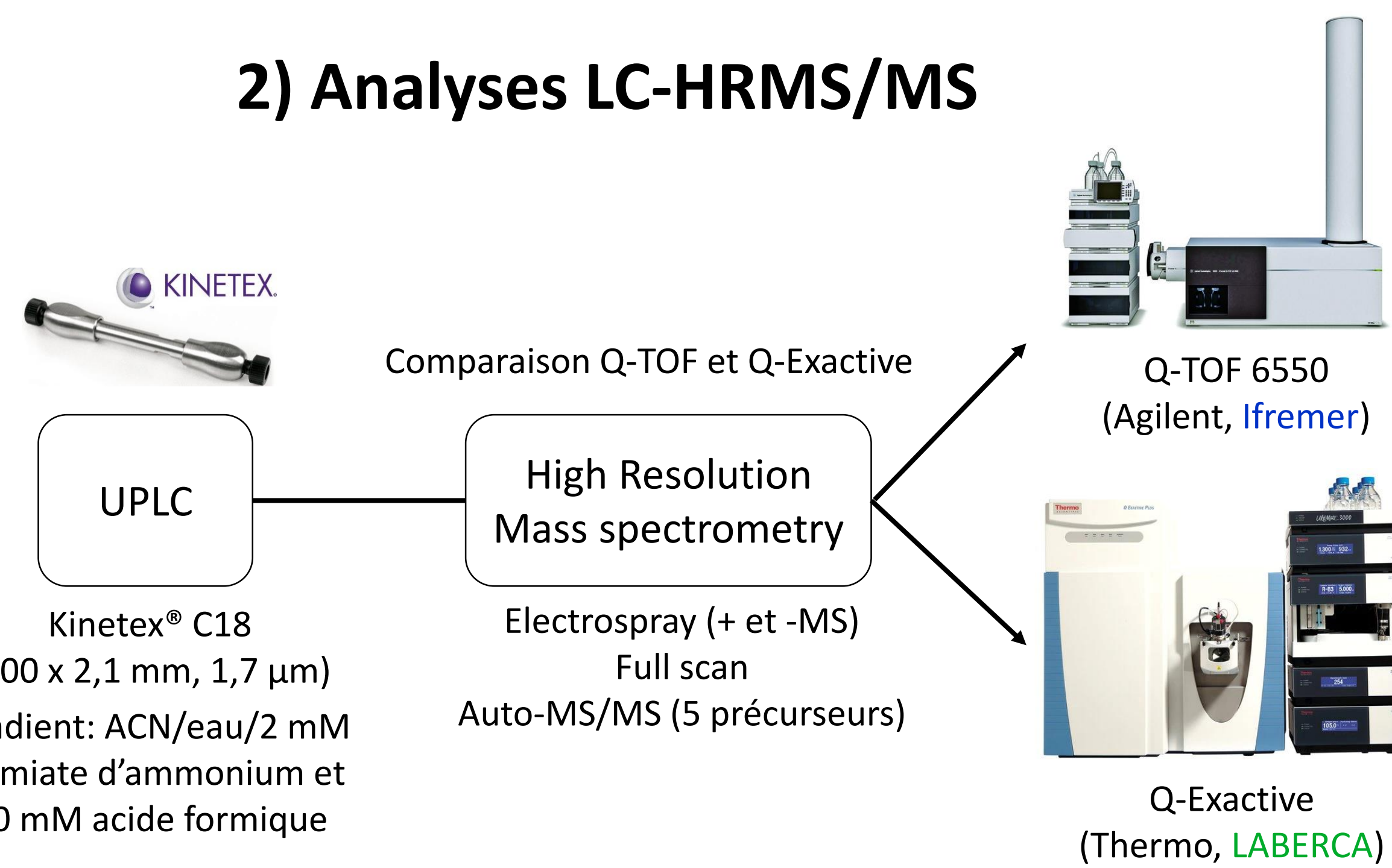
- 459 échantillons (glandes digestives) collectés entre 2018 et 2021 (73% de )
- Quantification de 44 phycotoxines
- Des organismes « naïfs » maintenus en conditions contrôlées dans la station de Bouin (= matrices blanches)

#### Design expérimental :

Comparaison « blanc » vs. contaminé (toutes toxines confondues)

- ≥ 1000 µg/kg pour
- ≥ 200 µg/kg pour
- Représentatifs des contaminations naturelles observées
- Tentative de prise en compte des stades physiologiques théoriques (repos, maturation, ponte, engraissement maximal)

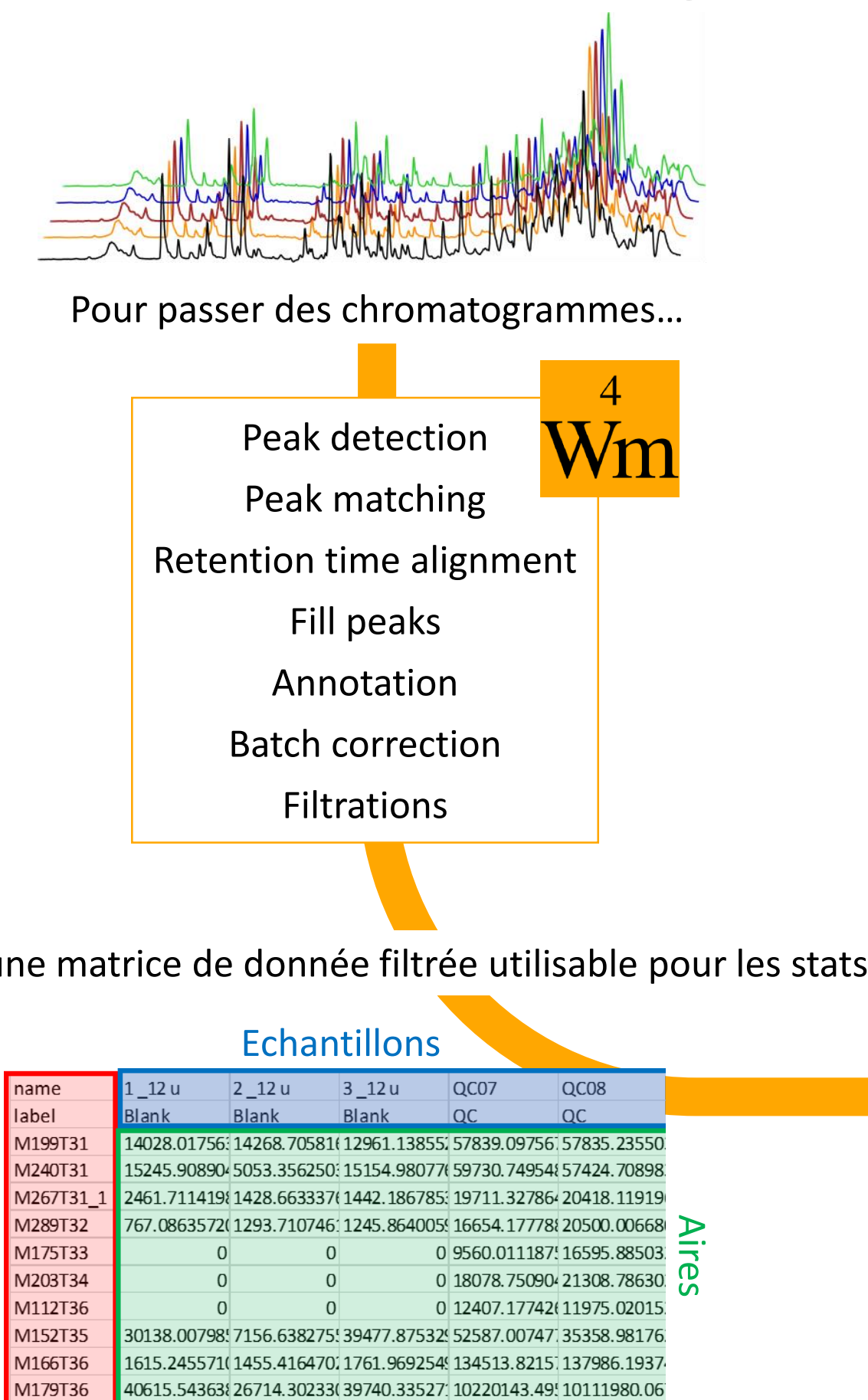
### 2) Analyses LC-HRMS/MS



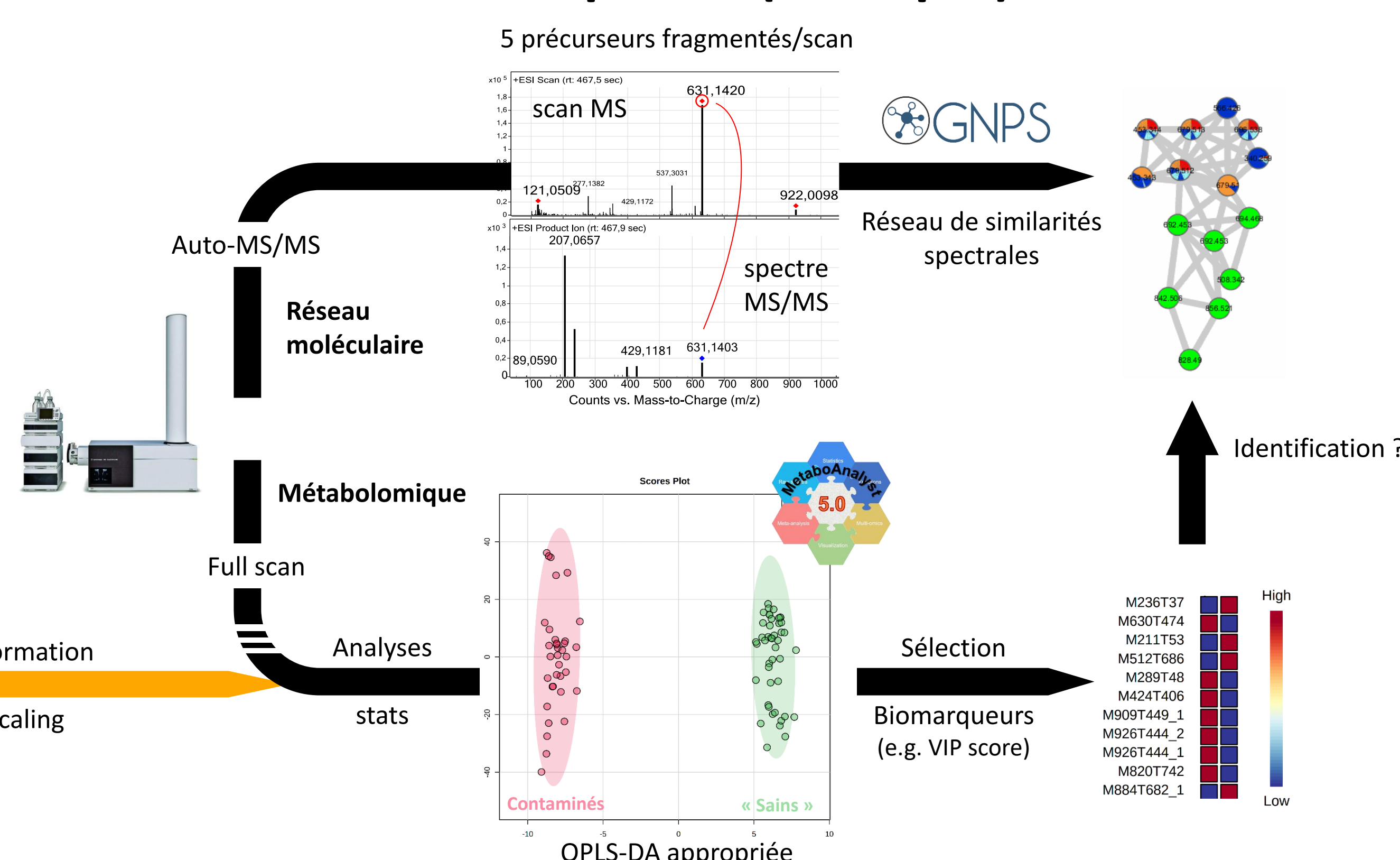
#### En suivant les bonnes pratiques de métabolomique (Broadhurst et al., 2018)

- Blancs analytiques, procéduraux (i.e. même traitement que les échantillons)
- Contrôles qualité (QC = pool d'échantillons) de conditionnement et injectés tous les 6 échantillons, QC dilués
- Mélanges de référence (mix 4 acides aminés marqués et mix 10 phycotoxines)
- Ordre aléatoire d'injection des échantillons
- Analyses auto-MS/MS sur échantillons et auto-MS/MS itérative sur QC

### 3) Data processing



### 4) Analyses statistiques et identification des biomarqueurs (exemple)



## Résultats attendus

- Mettre en évidence des biomarqueurs candidats (d'exposition ou de non-exposition) en utilisant les matrices blanches vs. contaminées
- Confirmation des résultats préliminaires ?
- Éprouver cette liste de biomarqueurs candidats
- selon nature contamination / complexité / reproductibilité dans le temps / sites d'échantillonnage
- Essayer d'apprécier la « persistance » et la sensibilité de détection des biomarqueurs
- Comparer biomarqueurs entre et
- Vérifier les performances individuelles et complémentaires de 2 instruments HRMS
- Tenter d'identifier les biomarqueurs ou à défaut leur classe chimique

**Remerciements :** Je souhaite remercier Florence Mondeguer (heureuse retraitée) pour être à l'origine de ce projet et pour avoir initié les échanges avec Yann Guitton (LABERCA) et la plateforme de Bouin. Je tiens à remercier Bruno Petton (station d'Argenton) et Lionel Degremont (station de la Tremblade) pour avoir produit les huîtres et moules « naïves », ainsi que Killian Guyomard (station de Bouin) qui s'occupe quotidiennement des organismes. Merci aux collègues qui m'auront aidé à disséquer les bivalves (Véronique, Fabienne, Simon, Valentin...). Merci à Valentin pour avoir accepté de participer à ce projet via son stage M2, aux collègues de Yann (Justine, Axel...) pour nous accompagner dans ce projet. Financement accordé par la DS Ifremer (projet politique de site 2021-2022).

**Références :** Mondeguer, F., Antignac, J.-P., Guitton, Y., Monteau, F., Borgne, S.L., Hess, P. (2012). Nouvelle stratégie de caractérisation non ciblée de type métabolomique au service de l'identification de composés bioactifs accumulés dans les mollusques bivalves. Spectra analyse 284 ; Broadhurst, D., Goodacre, R., Reinke, S.N., Kuligowski, J., Wilson, I.D., Lewis, M.R., Dunn, W.B. (2018). Guidelines and considerations for the use of system suitability and quality control samples in mass spectrometry assays applied in untargeted clinical metabolomic studies. Metabolomics 14 (6):72.