

EVACIGUA : Evaluation de la présence des ciguatoxines dans les poissons à risque des eaux territoriales de La Réunion et soumis à la réglementation

RAPPORT FINAL

Partenaires :



Convention du 25 mars 2022 au titre du Contrat de Convergence et de Transformation
2019-2022, mesure 4.4.2.2 Plan d'avenir pour la pêche professionnelle



Projet réalisé pour le compte de : Ministère des Outre-Mer, représenté par le Préfet de La Réunion Contact : Direction de la Mer Sud Océan Indien	Projet conventionné : Convention au titre du Contrat de Convergence et de Transformation 2019-2022, mesure 4.4.2.2 Plan d'avenir pour la pêche professionnelle Date de signature : 25/03/2022. Projet cofinancé par la Région Réunion (conventions annuelles Citeb)
Titre du document : EVACIGUA : Evaluation de la présence des ciguatoxines dans les poissons à risque des eaux territoriales de La Réunion et soumis à la réglementation. Rapport final	N° d'identification du dossier : A21.D077 Date de publication : 30/06/2026 Version : 1 Nb pages (hors annexes) : 55 Nb pages annexes : 25
Maitre d'œuvre : Centre technique de recherche et de valorisation des milieux aquatiques (Citeb) 62, bd du Chaudron 97 490 Sainte-Clotilde Contact : contact@citeb.re	
Partenaires et collaboration scientifique : CRPMEM : Poirout T. et Courtois L., coordination des collectes d'échantillons à La Réunion. Ifremer DOI : Evano H. et Bonhommeau S., fourniture d'échantillons et données des projets ACCOBIOM, IPERDMX. IRTA : Reverté J., Rambla-Alegre M., Campas M. et Diogène J., analyse par UPLC-MSMS Delmas C. (CHARLES V) & Sinama M.N. (PACHA), fourniture de poissons du Banc des 90	
Auteurs : Turquet J.¹, Maillot F.¹, Poirout T.², Courtois L.², Reverté J.³, Rambla-Alegre M.³ 1= Citeb, 2 = CRPMEM, 3 IRTA	
Référence : Turquet J., Maillot F., Poirout T., Courtois L., Reverté J., Rambla-Alegre M. (2026). EVACIGUA : Evaluation de la présence des ciguatoxines dans les poissons à risque des eaux territoriales de La Réunion et soumis à la réglementation. Rapport final. Rapport pour le compte du Minister des Outre-Mer, DMSOI, 48 p	
Résumé : Le programme EVACIGUA (2022–2026), financé dans le cadre du Contrat de Convergence et de Transformation, a évalué la présence de ciguatoxines (CTX) dans les poissons soumis à réglementation dans les eaux côtières de La Réunion et sur le Banc des 90 (Mont La Pérouse). Les analyses ont été réalisées par le Citeb au moyen du test cellulaire Neuro-2a (N2a CBA), méthode officielle française validée par l'ANSES en 2024, complétées par des analyses de profilage toxinique par UPLC–MS/MS réalisées par l'IRTA (Espagne). Le programme a porté sur 174 individus à La Réunion et 103 individus au Banc des 90, répartis en une vingtaine d'espèces. Les résultats obtenus constituent la première base de données analytique significative sur la contamination ciguatérique des poissons des eaux réunionnaises depuis plus de vingt ans et fournissent des éléments actualisés pour une révision argumentée de l'arrêté préfectoral de 2009 relatif à la commercialisation des poissons à risque ciguatérique à La Réunion. Le présent rapport expose l'ensemble des méthodes mises en œuvre et présente les principaux résultats obtenus.	
Mots clés : Ciguatera, Réunion, Banc des 90, Mont La Pérouse, évaluation du risque, ciguatoxine	

Sommaire

1. Présentation du projet	2
1.1. Problématique	2
1.2. Contexte	2
1.3. Objectifs et résultats attendus	4
1.4. L'arrêté Préfectoral de 2009	6
2. Méthodes d'analyses mise en œuvre	8
2.1. Le test Neuro 2A	8
2.2. La UPLC-MSMS	11
3. Résultats obtenus pour le volet 1 : La Réunion	14
3.1. Echantillonnage	14
3.2. Analyses de la toxicité par Neuro-2A	18
3.2.1. Analyse globale	18
3.2.2. Analyses pour Variola louti	19
3.2.3. Analyses pour Sphyaena barracuda	22
3.2.4. Analyses comparatives avec des cas d'intoxications	25
3.3. Recherche des analogues des CTX par UPLC MSMS	26
3.4. Évaluation du risque par analyse bibliographique de 5 espèces de balistes	28
4. Résultats obtenus pour le volet 2 : Banc des 90	30
4.1. Echantillonnage	30
4.2. Analyses de la toxicité par Neuro-2A	35
4.2.1. Analyse globale	35
4.2.2. Analyses comparatives chair vs foie	37
4.2.3. Relations taille, poids / toxicité	38
4.2.4. La campagne 2002-2004 (AQS-IFOP)	41
4.2.5. Comparaison des résultats 2002 - 2004 et EVACIGUA (2022–2025) au Banc des 90	43
4.3. Recherche des analogues des CTX par UPLC MSMS	44
5. Synthèse et recommandations	47
5.1. Bilan pour le volet 1 : La Réunion	47
5.2. Bilan pour le volet 2 : Banc des 90 milles (Mont La Pérouse)	48
5.3. Recommandations	50
6. Références bibliographique	54

ANNEXES

1. Présentation du projet

1.1. Problématique

Les biotoxines marines présentes dans les produits marins sont considérées à ce jour comme un problème émergent en UE tant du point de vue de la santé publique, que d'un point de vue économique par la perte de marchés. Les poissons vecteurs de la ciguatera sont porteurs de toxines acquises par leur alimentation et produites par plusieurs micro-organismes récifaux benthiques.

Les connaissances scientifiques sur les biotoxines marines tropicales demeurent hétérogènes d'une région à l'autre. La Réunion dispose depuis 1966 d'une réglementation spécifique (par arrêté préfectoral) qui restreint ou interdit la commercialisation de certaines espèces de poissons en raison du risque d'intoxication par des biotoxines marines, en particulier des ciguatoxines. Très peu de données existent sur la contamination des espèces de poissons de La Réunion, seuls les restes de repas toxiques et les poissons importés font l'objet d'analyses régulières par la DAAF.

1.2. Contexte

Plus d'une dizaine d'affections pathologiques ont été identifiées dans les îles de l'Océan Indien mettant en cause des biotoxines marines qui contaminent les chaînes alimentaires. Parmi elles, figurent de nouvelles classes de toxines aux effets létaux rapides sur l'Homme via la consommation de divers organismes (requins, tortues, sardines). Les poissons vecteurs de la ciguatera sont porteurs de toxines acquises par leur alimentation et produites par plusieurs micro-organismes récifaux benthiques.

Dans les régions tropicales qui misent beaucoup sur le développement de la pêche et du tourisme, la maîtrise et le suivi des phénomènes aux plans respectifs de la santé publique, de l'hygiène alimentaire et de l'environnement sont donc identifiés comme prioritaires. De plus, un certain nombre de ces pays exportent vers l'Europe un volume croissant de produits de la pêche toujours plus diversifiés et exposent ainsi le consommateur européen à des toxines non ou mal connues pour lesquelles il n'existe pas à ce jour de surveillance appropriée.

Une réglementation locale spécifique existe à La Réunion depuis 1966, fixant une liste d'espèces de poissons tropicaux interdites à la commercialisation. Cette liste évolue régulièrement en fonction de l'état des connaissances, de la situation épidémiologique locale et régionale, limitant ainsi l'impact néfaste sur la santé. Deux révisions majeures ont été réalisées en 1982 et en 1999, cette dernière introduisant des espèces de requins parmi la liste des espèces interdites (la dernière mise à jour date de 2009 et figure en annexe 1).

Les connaissances scientifiques sur les biotoxines marines tropicales demeurent hétérogènes d'une région à l'autre.

A La Réunion très peu de données existent sur la contamination des poissons des eaux territoriales réunionnaises. Les dernières études portent essentiellement sur les recherches sur les microalgues (années 1991-2000). Depuis, les suivis toxicologiques dans les poissons sont pilotés par la DAAF et s'intéressent essentiellement au contrôle des produits à l'importation et aux restes de repas ayant entraîné une intoxication alimentaire collective (TIAC). Les dernières données acquises localement

datent des années 2000 (environ 20 échantillons issus de la pêche locale). Depuis 2015, les recherches se focalisent sur les requins (bouledogue et tigre).

Plus près de la Réunion, le Banc des 90 milles (banc La Pérouse) a fait l'objet d'une évaluation spécifique en 2005. 140 spécimens de poissons commerciaux ont été prélevés et analysés (programme AQS/IFOP R01/11 du 13/12/2001, DRAM-RIE IFOP du 4/11/2003), deux espèces ont montré des résultats de présence de toxines importantes (*Lutjanus bohar* 87% et *Variola louti* 41%).

En 2018, afin de combler un manque dans la connaissance sur cette thématique à la Réunion et dans la zone du sud-ouest de l'Océan Indien, un Programme d'actions « biotoxines marines de l'Océan Indien » sur 4 ans a été proposé par le laboratoire du Citeb aux autorités et collectivités. Il est basé sur les recommandations des études antérieures réalisées dans la région sud-ouest de l'Océan Indien.

Les objectifs proposés en 2018 sont de :

- Structurer / stabiliser le laboratoire d'expertise des biotoxines marines pour l'Océan Indien (y compris Mayotte) en tant que Pôle de compétence de référence (existant à la Réunion). Il doit être renforcé afin de proposer aux professionnels et institutionnels une expertise, des moyens de diagnostic fiables pour détecter la présence de biotoxines dans les produits marins.
- Acquérir des données (épidémiologiques, toxicologiques, environnementales), et ainsi cartographier les risques à l'échelle de la région.
- Développer des méthodes de détections adaptées aux contextes locaux et aux réalités économiques.
- Etudier les principes à l'origine des phénomènes (toxines, microorganismes responsables, facteurs environnementaux favorables).
- Développer des réseaux (régionaux et Nord-Sud).

Ce plan d'action local et régional proposé se décline en 7 thématiques identifiées depuis 2018 :

- T1 : Animation (réseau et projet), agrément et lien avec le LNR, essais inter-laboratoires, lien avec les professionnels (locaux, importateurs), et investissement.
- T2 : Développement méthodologique (outils de détection des toxines dans les poissons, dont les requins)
- T3 : Améliorer la connaissance sur la contamination des poissons (dont requins) à la Réunion et Mayotte
- T4 : Développer des recherches sur les I-CTX des poissons : répartition tissulaire, structure, toxicité,
- T5 : Développer des recherches sur l'origine et le transfert des toxines : microalgues, ...
- T6 : Développer la Coopération Régionale (Madagascar, Seychelles, Maurice, COI, ...) et les réseaux Nord-Sud (RUP, ROM, Efsa)

- T7 : Analyser le risque sur les grands bancs de pêche du plateau des Mascareignes (cartographie des risques)

L'Etat, au travers de conventions particulières, finance le thème 2 et une partie du thème 3. La Région Réunion porte le thème 1 et a contribué au financement des thèmes 4 et 5 avec des fonds FEDER (programme CIGUATOXRUN).

Le présent projet porte sur la thématique 3, et plus spécifiquement sur l'amélioration des connaissances sur la contamination des poissons issus des eaux territoriales de la Réunion et soumis à réglementation.

1.3.Objectifs et résultats attendus

Le projet EVACIGUA proposé poursuit cinq objectifs :

1. Acquérir de la donnée actualisée sur la présence / teneur en ciguatoxines dans les espèces soumises à réglementation et issues des eaux territoriales réunionnaises ;
2. Analyser pour chaque espèce les répartitions tissulaires (chair/ foie) dans plusieurs zones de pêche de la Réunion ;
3. Evaluer à T + 17 ans l'état de la contamination sur le banc des 90 milles.
4. Contribuer à une cartographie du risque dans le sud-ouest de l'Océan Indien.
5. Disposer de données actualisées, de qualité et favorables afin de proposer aux autorités une évolution de la réglementation.

Afin de répondre aux objectifs, deux volets distincts ont été envisagés, fonction de la zone géographique ciblée :

- **Volet 1 : Evaluation dans les eaux côtières de la Réunion.**

Ce volet concerne l'analyse d'échantillons de poissons pêchés dans les eaux côtières de La Réunion afin de disposer d'une série significative de données de contamination, par espèce et par zone de pêche.

Le plan d'analyse initial était basé sur des espèces commerciales inscrites dans l'AP de 2009, potentiellement exploitées par les pêcheurs locaux, mais actuellement interdit.

Les zones de captures ciblées étaient réparties tout autour de l'île.

- **Volet 2 : Evaluation sur le banc des 90 milles.**

Cette activité concerne l'analyse d'échantillons de poissons pêchés sur le banc des 90 milles (Mont sous-marin La Pérouse) au travers de campagne de pêche spécifique ou d'achat de poissons des espèces ciblées directement aux pêcheurs professionnels ayant les autorisations nécessaires. Elle permettra de disposer de données de contamination actualisées, par espèce pour cette zone proche de la Réunion.

Les résultats attendus à l'issu du projet se résume ainsi :

- Apporter de la donnée récente qui confirmera ou infirmera la présence de ciguatoxines dans des espèces de poissons potentiellement exploitables des eaux territoriales réunionnaises.
- Une cartographie du risque sera mise à jour en fonction des connaissances issues des autres pays de la zone océan Indien et des autres projets de recherche développés localement.
- Un protocole de suivi de la qualité des produits exploités sera proposé afin de surveiller annuellement les produits commercialisés, issus de la pêche locale.
- Un dossier d'argumentation pour une proposition de réévaluation de l'arrêté préfectoral sera élaboré.

Le présent rapport synthétise l'ensemble des résultats obtenus dans le cadre du projet EVACIGUA.

1.4. L'arrêté Préfectoral de 2009

Une réglementation locale spécifique (Arrêté Préfectoral) interdit la commercialisation de certaines espèces à risque depuis 1966. Il a été révisé à plusieurs reprises afin de l'adapter aux réalités épidémiologiques locales et régionales. La dernière révision date de 2009 : Arrêté Préfectoral n°3621 du 24/12/2009.

Pour rappel, l'article 2 interdit à La Réunion la commercialisation de plusieurs espèces de poisson repris dans le tableau suivant :

ARTICLE 2 – ESPÈCES DE POISSONS INTERDITES À LA COMMERCIALISATION				
Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
ACANTHURIDAE	<i>genus (1)</i>	<i>spp (2)</i>	poisson chirurgien	poisson chirurgien
BALISTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	baliste	bourse
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>ignobilis</i>	carangue grosse tête	carangue grosse tête
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>lugubris</i>	carangue	carangue noire
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>melampygus</i>	carangue aile bleue	carangue bleue
CARANGIDAE	<i>Carangoides</i>	<i>fulvoguttatus</i>	carangue amoureuse	carangue blanc'
CARCHARINIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requins gris, baleinier, tigre	requins gris, baleinier, tigre
CLUPEIDAE	<i>Herklotsichthys</i>	<i>quadrimaculatus</i>	hareng queue blanche	sardine queue blanche
CLUPEIDAE	<i>Amblygaster</i>	<i>sirm</i>	sardinelle tachetée	sardinelle tachetée
DIODONTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	poisson porc-épic	poisson porc-épic
HEXANCHIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requin gris	requin gris
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>griseus</i>	empereur gris	capitaine pisa
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>grandoculis</i>	empereur tatoué	capitaine blanc
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>gibbus</i>	lutjan bossu	vivanneau pagale
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>sebae</i>	bourgeois	bourgeois
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>bohar</i>	vara vara	vara vara
SCOMBRIDAE	<i>Gymnosarda</i>	<i>unicolor</i>	thon dents de chien	thon dents de chien
SCORPAENIDAE	<i>Pterois et Synancea</i>	<i>spp</i>	poisson scorpion	poisson scorpion
SERRANIDAE	<i>Cephalopholis</i>	<i>argus</i>	vielle cuisinier	prude
SERRANIDAE	<i>Variola</i>	<i>louti</i>	croissant queue jaune	grand queue
SERRANIDAE	<i>Plectropomus</i>	<i>maculatus</i>	babonne	babonne
SPHYRAENIDAE	<i>Sphyræna</i>	<i>barracuda</i>	barracuda	békine à dents
SPHYRNIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requin marteau	requin marteau
TETRAODONTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	tétrodon	poisson ballon
(1) <i>genus</i> : tous les genres de la famille				
(2) <i>spp</i> : toutes les espèces du genre				

L'article 3 autorise en dérogation à l'article 2, trois espèces des familles Carcharinidae et Sphyrnidae interdits de l'article 2

ARTICLE 3 – ESPÈCES AUTORISÉES EN DÉROGATION À L'ARTICLE 2				
Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
CARCHARHINIDAE	<i>Prionace</i>	<i>glauca</i>	requin peau bleue	peau bleue
CARCHARHINIDAE	<i>Carcharhinus</i>	<i>longimanus</i>	requin pointe blanche océanique	pointe blanche du large
SPHYRNIDAE	<i>Isurus</i>	<i>oxyrinchus</i>	requin taupe bleu	mako

L'article 4 autorise en dérogation à l'article 2, les espèces ci-dessous pêchées dans les eaux territoriales réunionnaises

ARTICLE 4 – ESPÈCES COMMERCIALISABLES EN EAUX TERRITORIALES RÉUNIONNAISES (DÉROGATION ARTICLE 2)				
Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>lugubris</i>	carangue	carangue noire
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>ignobilis</i>	carangue	carangue grosse tête
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>melampygus</i>	carangue aile bleue	carangue bleue
CARANGIDAE	<i>Carangoides</i>	<i>fulvoguttatus</i>	carangue amoureuse	carangue blanc'
CARCHARHINIDAE	<i>Carcharinus</i>	<i>falciformis</i>	requin soyeux	requin gris
CLUPEIDAE	<i>Amblygaster</i>	<i>sirm</i>	sardinelle tachetée	sardinelle tachetée
CLUPEIDAE	<i>Herklotsichthys</i>	<i>quadrimaculatus</i>	hareng queue blanche	sardine queue blanche
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>griseus</i>	Empereur gris	Capitaine pisa
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>grandoculis</i>	Empereur tatoué	Capitaine blanc
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>gibbus</i>	lutjan bossu	vivanneau pagale
SCOMBRIDAE	<i>Gymnosarda</i>	<i>unicolor</i>	thon dents de chien	thon dents de chien
SERRANIDAE	<i>Cephalopholis</i>	<i>argus</i>	vielle cuisinier	prude
SERRANIDAE	<i>Variola</i>	<i>louti</i>	croissant queue jaune	grand queue * entier < 2,5 kg

2. Méthodes d'analyses mise en œuvre

Depuis 2023, le bioessai souris a été abandonné et remplacé par le test cellulaire N2A que nous avons développé au laboratoire du Citeb depuis 2019. Ce test cellulaire est maintenant reconnu au niveau national et Européens. Cette méthode a été validée par l'ANSES fin 2024, et est devenue ainsi la méthode de détection des ciguatoxines officielle française. Le Citeb est depuis agréé par la DGAL pour cette méthode.

Des analyses complémentaires ont également été réalisées par le laboratoire de l'IRTA en Espagne, spécialisé entre autres sur les recherches de ce groupe de toxines. Des analyses par LCMSMS ont été réalisées de manière complémentaires sur quelques échantillons type afin d'identifier les analogues de ciguatoxines présents.

2.1. Le test Neuro 2A

Depuis 2016, le Citeb utilise et a adapté le test cellulaire sur neuroblastomes de souris ou test N2a, comme alternative au bioessai souris, qui sert actuellement de référence pour détecter les ciguatoxines en France.

Il s'agit d'un test sur micro-plaque inoculée avec une culture de cellules de neuroblastomes qui sont mis en contact avec des concentrations décroissantes d'extrait à tester, en présence et en absence d'ouabaïne et de vératridine, qui augmentent le potentiel d'action des ciguatoxines.

La méthode mise en œuvre dans le projet suit la méthode officielle maintenant référencée : ANSES / LSAiments / LSA-INS-1618 – Version 0, novembre 2024 : « Détermination des ciguatoxines dans la chair de poisson par test de cytotoxicité sur lignée cellulaire Neuro-2a ».

La méthode n'est pas détaillée dans le présent document, le principe peut se résumer ainsi :

Ce test sur lignée cellulaire de neuroblastomes de souris, Neuro-2a, est mis en œuvre pour détecter et quantifier les ciguatoxines (CTX). Cette analyse repose sur la capacité des CTX à se fixer sur les canaux sodiques voltage-dépendants (Nav), ce qui entraîne une augmentation de l'influx d'ions sodium (Na^+) dans la cellule. Deux inhibiteurs sont utilisés afin d'agir comme des potentialisateurs de l'action des CTX : la vératridine et l'ouabaïne. La vératridine induit une activation des Nav (ils vont rester en position ouverte), tandis que l'ouabaïne bloque la pompe sodium/potassium (Na^+/K^+), empêchant ainsi la cellule de lutter contre l'effet toxique de la vératridine. La combinaison de ces deux molécules accentue l'influx de Na^+ pour conduire à la mort cellulaire.

Afin de mettre en œuvre ce test cellulaire, une portion de l'extrait méthanolique est évaporée puis reprise dans du milieu de culture cellulaire. Cet extrait est dilué successivement afin d'obtenir huit niveaux de concentration.

Ces extraits dilués sont mis en contact avec des cellules Neuro-2a. La moitié des extraits au contact des inhibiteurs ouabaïne et vératridine permet de déterminer la toxicité, l'autre moitié sans inhibiteur permet de garantir la spécificité du test et de vérifier l'absence d'effet matrice.

Après incubation et mise en contact des cellules avec du MTT, la viabilité cellulaire, et donc l'effet cytotoxique des CTX est quantifié par un dosage colorimétrique. Le sel de bromure du MTT coloré en jaune est converti par les mitochondries des cellules vivantes en cristaux de formazan violets. Les cristaux sont dissous dans le DMSO avant lecture de l'absorbance. Plus la solution est colorée, plus le nombre de cellules métaboliquement actives est important, et donc plus la concentration en CTX est faible. L'utilisation d'un analogue de CTX (ou standard) pour l'étalonnage permet de relier, par régression logistique, la viabilité cellulaire à la teneur en CTX.

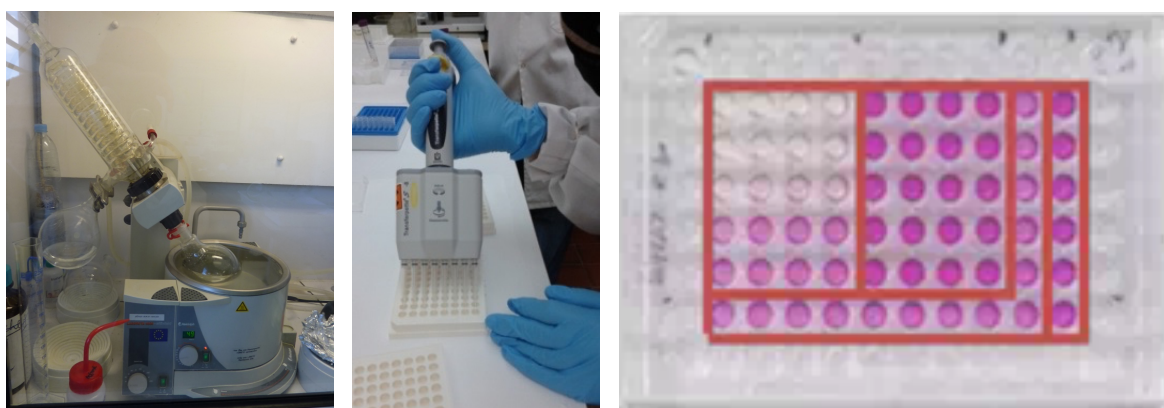


Figure 1 : Illustration de différentes étapes pour l'analyse par test cellulaire neuro-2A : extraction chimique, préparation des plaques de culture cellulaire, lecture des résultats par dosage colorimétrique.

Un test de criblage permet d'identifier les échantillons négatifs, les échantillons positifs et ceux présentant un effet matrice. Ce test préliminaire permet également d'estimer le niveau de dilution de l'extrait pour une analyse complète. Elle est réalisée pour les échantillons positifs afin de déterminer leur toxicité et pour les échantillons négatifs présentant un effet matrice significatif afin de déterminer leur limite de quantification (LQ).

Des échantillons de référence interne positif et négatif sont insérés régulièrement dans la chaîne analytique afin de contrôler la bonne mise en œuvre du test et les sensibilités mesurées.

Afin de déterminer les concentrations observées dans les échantillons, l'étalon utilisé en première intention dans le projet était celui envoyé par l'équipe du Pr Lewis (Australie), lots fournis en début de projet. Des analyses comparatives réalisées avec nos partenaires IRTA et le LNR de Maison Alfort ont permis de détecter des anomalies dans la qualité de lots de ces étalons courant 2025. Ce problème confirmé suite à des analyses de quantification par LCMSMS, nous ont contraint de refaire une grande majorité des analyses avec un nouvel étalon commandé à l'Institut Malardé de Polynésie Française. Cet étalon est maintenant utilisé par l'IRTA et le LNR comme standard. Il contient de la P-CTX1B, issu de foie de murène (*Gymnothorax javanicus*) de Polynésie Française. La CTX1B est principalement présente dans les tissus de poissons carnivores marins de la région du Pacifique et sert de référence dans les textes de l'EFSA entre autre.

Les résultats quantifiés dans cette étude sont donc exprimé en équivalent P-CTX1B (ILM) en ppb ou pg eq. CTX1B/mg de matrice testé.

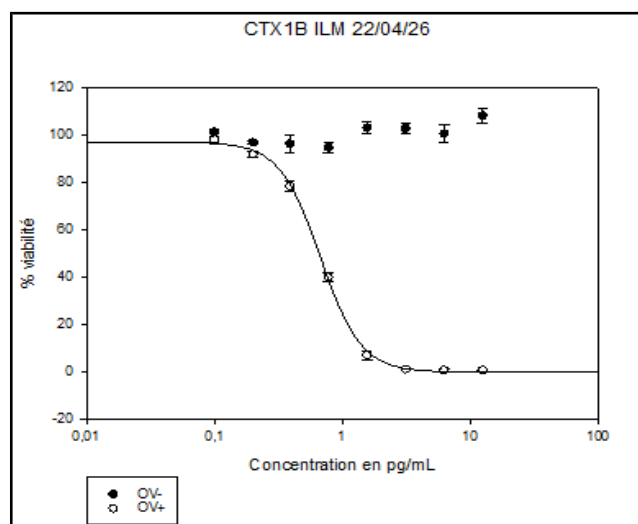


Figure 2 : Exemple de courbe de cytotoxicité obtenue avec le Standard (CTX1B ILM) sur des cellules N2A avec (points blancs) et sans (points noirs) traitement à l'ouabaine / vératridine. Les barres d'erreur représentent les valeurs d'écart type (SD) pour 3 répétitions ($n = 3$). Cette courbe est typique l'action des CTX sur les cellules.

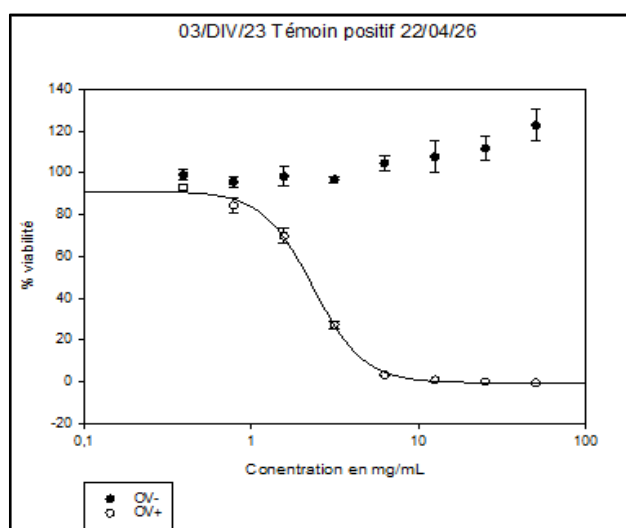


Figure 3: Exemple de courbe de cytotoxicité obtenue avec l'échantillon référence interne positif (02/div/23) sur des cellules N2A. Cette courbe est typique de la présence de composés de type CTX.

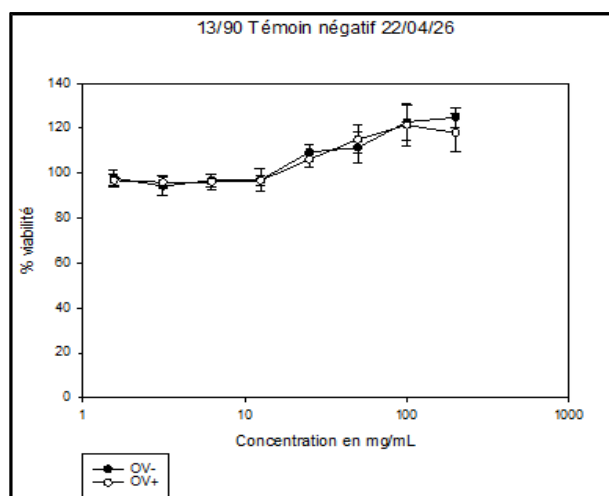


Figure 4: Courbe de cytotoxicité obtenue avec l'échantillon référence interne négatif (13/90). Il n'y a pas dissociation significative des courbes (points noirs et blancs), l'activité cytotoxique ne révèle pas la présence de composés de type CTX.

2.2. La UPLC-MSMS

En fin de projet des analyses complémentaires par UPLC-MSMS ont été réalisées pour des échantillons spécifiques afin d'étudier la nature des analogues de CTX présent dans les tissus de certains spécimens.

Ces analyses ont été réalisées à l'IRTA, Institut basé en Catalogne (Espagne).

La méthode UPLC-MS/MS (Ultra Performance Liquid Chromatography couplée à la spectrométrie de masse en tandem) repose sur la séparation rapide des composés d'un échantillon par chromatographie liquide à très haute pression (UPLC). Les molécules séparées sont ensuite ionisées à la sortie de la colonne. Elles entrent dans le spectromètre de masse où elles sont d'abord sélectionnées selon leur rapport masse/charge (MS1). Les ions précurseurs sont ensuite fragmentés, et les fragments spécifiques sont analysés (MS/MS) pour améliorer la sélectivité. Cette combinaison permet une identification et une quantification très sensibles et spécifiques de composés à l'état de traces.

Extraction des toxines

Les analyses ont été réalisées sur un échantillon d'au moins 10 g de chaque tissu prélevé sur chaque poisson. Un protocole d'extraction optimisé a été utilisé à cette étape afin d'obtenir une récupération maximale des analogues de la CTX, conformément à la publication de Tudò *et al.* (2022). L'extraction a été réalisée dans les laboratoires du Citeb. En bref, $10 \pm 0,1$ g de tissu de poisson ont été pesés dans des tubes de 50 ml. L'échantillon a été chauffé au bain-marie à 70 °C pendant 10 minutes. Ensuite, une homogénéisation à l'acétone (20 ml) a été effectuée pendant 2 minutes à l'aide d'un mélangeur Ultra-Turrax à pleine vitesse. L'homogénat a été centrifugé à $3\,000 \times g$ pendant 10 minutes à température ambiante (25 °C) ; le surnageant a été recueilli et filtré à travers un filtre en PTFE de 0,22 µm (Whatman). Le culot a été soumis à une deuxième extraction avec 20 ml supplémentaires d'acétone, mais sans étape de chauffage. Les deux surnageants ont été réunis et évaporés jusqu'à sécheresse dans un évaporateur KNF RC600 (KNF Neuberger, Balterswil, Suisse) à 50 °C. Le résidu a été porté à 4 mL avec de l'eau Milli-Q, puis de l'éther diéthylique a été ajouté et mélangé au vortex afin de déclencher une partition eau/éther diéthylique (1:4, v/v), le tout étant maintenu à température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite, la phase d'éther diéthylique a été récupérée avant de répéter le rinçage à l'éther. Les deux fractions éther sont regroupées, puis séchées pendant une nuit. L'extrait sec a été remis en suspension dans 2 mL d'un mélange méthanol/eau (8:2, v/v). L'extrait a été soumis à trois séparations avec du n-hexane (1:2, v/v) ; les phases hexaniques ont été éliminées, et la phase aqueuse-méthanol a été séchée à l'évaporateur à 50 °C, puis finalement remise en suspension dans 5 mL de méthanol. Les extraits finaux, contenant 10 g d'équivalent tissulaire (TE) par mL pour les chairs et 5 g d'équivalent tissulaire (TE) par mL pour les foies, ont été conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse.

Protocole de purification

Une étape de purification a été mise en œuvre afin d'éliminer autant que possible les interférences et de réduire les effets de matrice susceptibles de perturber l'analyse par LC-MS/MS. Les opérations de purification ont été réalisées dans les laboratoires de l'IRTA. Pour l'analyse par UPLC-MS/MS, tous les échantillons ont été passés à travers une cartouche Florisil d'extraction en phase solide (SPE) avant l'analyse, afin de réduire les interférences potentielles liées à la matrice, conformément au protocole décrit par Murata et Yasumoto (2019). En bref, l'extrait séché a été reconstitué avec 2 mL de mélange

n-hexane-acétone (4:1, v/v) et chargé sur une cartouche SPE Florisil en phase normale (J.T.Baker® 500 mg/3 mL), préalablement conditionnée avec 3 mL de mélange n-hexane-acétone (4:1, v/v), l'échantillon a été lavé avec 3 mL de mélange n-hexane-acétone (4:1, v/v) à un débit de 0,6 mL/min, puis recueilli sous le nom de F1. Ensuite, les toxines ont été éluées avec 3 mL de mélange acétone-MeOH (9:1, v/v) à un débit de 1 mL/min. La fraction éluée a alors été identifiée comme F2. Les deux fractions (F1 et F2) ont été séchées sous un courant d'azote, puis reconstituées dans 500 µL de méthanol.

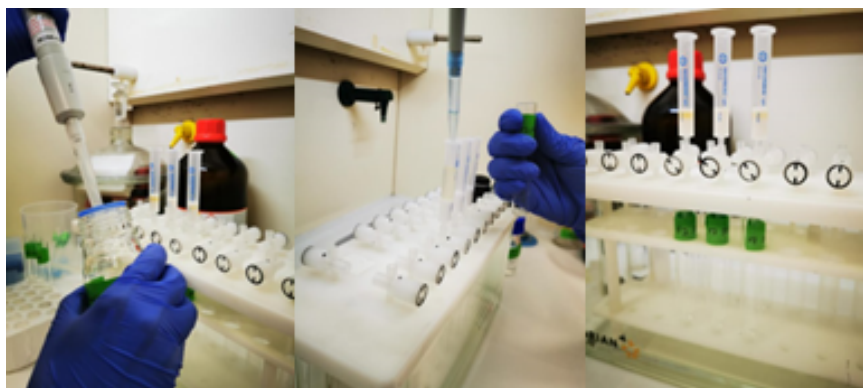


Figure 5 : Purification par SPE des échantillons

Chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem

Une méthode UPLC–MS/MS, basée sur le protocole proposé par Murray et al. (2024) avec quelques modifications, a été utilisée pour l'analyse des échantillons de poisson. Le système comprenait un Xevo TQ-XS de Waters Corporation (Milford, MA, États-Unis) couplé à un Acquity UPLC I-Plus-Class, également de Waters Corporation. Le contrôle des instruments, l'acquisition des données et l'analyse ont été réalisés à l'aide des logiciels MassLynx V4.2 et TargetLynx XS de Waters Corporation (Milford, MA, États-Unis). En bref, la séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne phényle BEH en phase inverse (2,1 × 50 mm, 1,7 µm) de Waters Corporation (Milford, MA, États-Unis) à 40 °C. Une élution par gradient binaire a été appliquée en utilisant la phase mobile A (H₂O contenant 0,2 % (v/v) d'hydroxyde d'ammonium) et la phase mobile B (95 % (v/v) d'acétonitrile contenant 0,2 % (v/v) d'hydroxyde d'ammonium). Le volume d'injection était de 2 µL et le débit d'élution par gradient a été fixé à 0,55 mL min⁻¹. Cinq méthodes différentes de spectrométrie de masse, avec des transitions variées, ont été utilisées pour l'identification et la confirmation des CTX, afin de couvrir les principaux congénères des types CTX1B et CTX3C, des groupes C–CTX et I–CTX, du groupe gambierone, du groupe gambierol et acide gambierique, ainsi que du groupe MTX, sur la base des descriptions fournies par Barreiro-Crespo et al. (2025a) et Barreiro-Crespo et al. (2025b) (documents complémentaires). La source du spectromètre de masse utilisée était une source ESI en mode ions positifs et négatifs, avec une température de source de 150 °C, une température de désolvatation de 600 °C, un débit d'azote (N₂) pour la désolvatation de 1 000 L h⁻¹, un débit de gaz du cône de 300 L h⁻¹ et un débit de gaz du nébuliseur de 7 bars. La cellule de collision fonctionnait avec un débit d'argon de 0,15 mL min⁻¹. Les échantillons ont été analysés en double. La limite de quantification (LOQ) pour l'UPLC–MS/MS a été définie comme la concentration la plus faible détectée avec exactitude et précision.



Figure 6 : photographie de l'équipement utilisé : Xevo TQXS (LC-MS/MS)

Évaluation de l'effet de matrice

Pour l'évaluation de l'effet de matrice (EQ1), une aliquote de 1 ml d'extrait a été enrichie en CTX1B afin d'obtenir une concentration finale de 1 ng/ml. Ensuite, une aliquote de 3,5 ml a été préparée et évaporée jusqu'à siccité sous un courant d'azote afin d'être remise en suspension dans chaque solvant de charge SPE.

$$(EQ1) \text{ Récupération} = \frac{\text{Concentration de l'étalon mesurée}}{\text{Concentration de l'étalon ajoutée}} \times 100\%$$

La « concentration de l'étalon ajoutée » correspondait à la concentration théorique dans l'extrait final de chaque échantillon enrichi avant la SPE (1 ng/mL), en supposant une récupération de 100 % et l'absence d'effets de matrice lors de l'analyse par LC-MS/MS. La moyenne des récupérations individuelles a été utilisée pour cette évaluation.

3. Résultats obtenus pour le volet 1 : La Réunion

3.1. Echantillonnage

Plusieurs espèces interdites à la commercialisation par l'article 1 de l'arrêté préfectoral n°3621 du 24/12/2009 et à fort enjeu pour la pêche professionnelle, étaient ciblées par cette évaluation (cf. tableau 1).

Tableau 1 : liste des espèces ciblées pour l'évaluation dans les eaux côtières de La Réunion

Espèces ciblées			
Nom scientifique	Nom commun	Nom local	Code FAO
<i>Variola louti</i>	Croissant queue jaune	Rouge grand queue, Grand queue	VRL
<i>Sphyrna barracuda</i>	Grand barracuda	Barracuda, Bekine	GBA
<i>Lutjanus bohar</i>	Vivaneau chien rouge	Vara-vara, casse marmite, carpe rouge	LJB
<i>Pterois miles</i> , <i>P. antennata</i> , ...	Rascasses volantes	Poisson l'armé	UHQ, PZT, ...
Autres espèces réglementées	divers sivant opportunités		

Un prévisionnel de 30 échantillons par espèce a été établi. L'échantillonnage a été coordonné par le CRPMEM de La réunion, avec des échantillons achetés aux pêcheurs par le Citeb une fois validés par le CRPMEM de La Réunion.

L'Ifremer au travers de ses programmes en cours, comme le programme ACCOBIOM, a également fourni des échantillons.

Une convention entre le Citeb, le CRPMEM et Ifremer a été signée entre les parties pour ce faire.

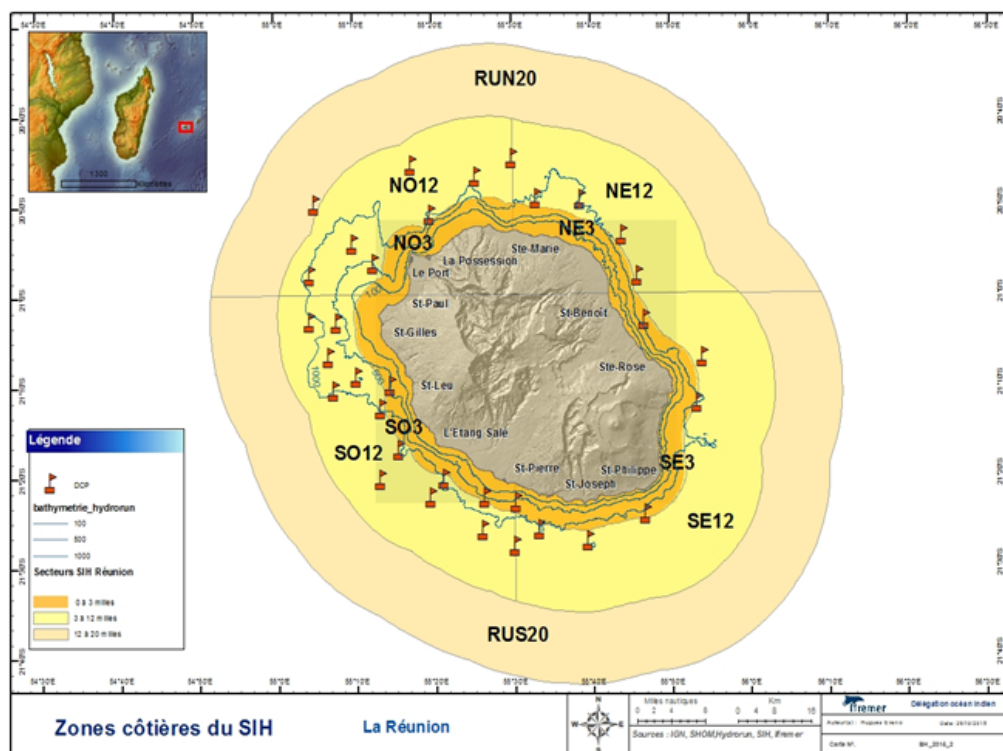


Figure 7 : Codification des zones du SIH des zones côtières de La Réunion utilisée dans le projet EVACIGUA

Du 10/01/2023 au 29/05/2026, 174 spécimens de poisson ont été traités dans le projet EVACIGUA, 142 achetés avec les moyens du projet au travers des pêcheurs coordonnés par le CRPMEM et 32 issus des projet de recherche de l'Ifremer ACCOBIOM et IPERDMX (Ifremer DOI 2023 & Roos et al., 2023).

Tableau 2 : Nombre d'individus collectés à La Réunion et analysés pour le projet EVACIGUA

Espèces	code FAO	n
<i>Variola louti</i>	VRL	65
<i>Sphyraena barracuda</i>	GBA	80
<i>Pterois miles</i>	UHQ	20
<i>Pterois antennata</i>	PZT	3
<i>Lutjanus bohar</i>	LJB	4
<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	RES	2

L'échantillonnage du programme EVACIGUA à La Réunion a porté sur 174 individus répartis en six espèces regroupées en quatre genre : *Variola louti* (VRL, n = 65), *Sphyraena barracuda* (GBA, n = 80), deux espèces de *Pterois* (UHQ + PZT, n = 23) et deux espèces de *Lutjanus* (LJB + RES, n = 6), (Tableau 2).

Lutjanus argentimaculatus a été intégrée au projet, car très proche de *Lutjanus bohar* et est systématiquement confondu sur le terrain. Les critères de différenciation nécessitent des observations particulières, en particulier sur le profil de la tête et sur le sillon préorbitaire.

De même pour les *Pterois*, les deux espèces (*P. miles* et *P. antennata*) ont été intégrées à l'étude.

Le prévisionnel d'un minimum de 30 spécimens par espèce n'a pas été tenue pour les genres *Pterois* et *Lutjanus*, malgré les nombreux appels aux professionnels. Cela reflète la rareté de cette ressource pour les *Lutjanus* et possiblement un intérêt faible pour les *Pterois*.

Le tableau 3 présente la répartition géographique des prélèvements, elle couvre les quatre quadrants côtiers de l'île définis par les zones SIH : le secteur Sud-Ouest concentre le plus grand nombre d'échantillons (n = 69), suivi du Nord-Ouest (n = 42), du Sud-Est (n = 41) et du Nord-Est (n = 14). Ce déséquilibre est probablement dû à des habitats peu favorables à la présence des espèces de fond dans la zone NE et par un effort de pêche supérieur dans les zone SE, SO et NO.

Tableau 3 : Répartition géographique des captures réalisées à La Réunion pour le projet

Espèces	code FAO	n total	Zone de SIH			
			NE	SE	SO	NO
<i>Variola louti</i>	VRL	65	1	23	21	12
<i>Sphyraena barracuda</i>	GBA	80	13	13	38	16
<i>Pterois 2sp</i>	UHQ + PZT	23	0	3	8	12
<i>Lutjanus 2sp</i>	LJB + RES	6	0	2	2	2
		174	14	41	69	42

Les quatre groupes d'espèces échantillonnés présentent des gabarits très contrastés (cf. tableau 4).

Tableau 4 : Données biométrique principales des captures réalisées à La Réunion pour le projet

			Poids					Longueur Totale			
Espèces	code FAO	n total	Moy (Kg)	±	ET	Min	Max	Moy (cm)	±	ET	Min
Variola louti	VRL	65	4,34	±	1,24	2,59	7,11	71,9	±	6,5	58,0
Sphyaena barracuda	GBA	80	7,27	±	4,83	1,84	23,80	106,3	±	20,6	69,2
Pterois 2sp	UHQ + PZT	23	0,602	±	0,301	0,100	1,028	35,3	±	6,5	20,4
Lutjanus 2sp	LJB + RES	6	7,22	±	2,81	1,57	7,10	73,6	±	11,1	59,0
		174									

Les *Pterois* (deux espèces confondues, $n = 23$) représentent les spécimens les plus petits et les plus légers de l'étude, avec une longueur moyenne de 35,3 cm ($\pm 6,5$ cm ; extrêmes : 20,4–43,5 cm) et un poids moyen de 0,60 kg ($\pm 0,30$ kg ; extrêmes : 0,10–1,03 kg).

Les *Lutjanus* (deux espèces, $n = 6$) présentent un gabarit élevé comparable à celui du barracuda, avec une longueur moyenne de 73,6 cm ($\pm 11,1$ cm ; extrêmes : 59–86,9 cm) et un poids moyen de 7,22 kg ($\pm 2,81$ kg ; extrêmes : 1,57–7,1 kg), bien que le très faible effectif de ce groupe limite la portée des statistiques descriptives.

Variola louti ($n = 65$) constitue une espèce de taille intermédiaire avec une longueur totale moyenne de 71,9 cm ($\pm 6,5$ cm ; extrêmes : 58–84 cm) et un poids moyen de 4,34 kg ($\pm 1,24$ kg ; extrêmes : 2,59–7,11 kg). Conformément à l'arrêté préfectoral ciguatéra, seuls les individus dépassant le seuil de 2,5 kg ont été retenus pour l'échantillonnage, ce qui explique l'absence de petits spécimens dans cet échantillon.

La distribution des tailles (figure 8a) est unimodale et légèrement asymétrique à droite, avec un mode principal dans la classe [74–76 cm[($n = 10$). La majorité des individus (73 %) se situe dans l'intervalle [62–78 cm[, ce qui reflète les classes de taille typiquement capturées par la pêche réunionnaise ciblant les gros individus.

La relation longueur–poids (figure 8b) des *Variola louti* prélevés à La Réunion ($n = 60$) suit une loi de puissance avec un coefficient d'allométrie $b = 2,73$ ($r^2 = 0,757$), indiquant une croissance légèrement allométrique négative. Le nuage de points présente une dispersion modérée, particulièrement dans la gamme de poids intermédiaire (3,5–5,5 kg). La gamme échantillonnée (2,13–7,11 kg ; 58–84 cm) est cohérente avec les données de la littérature internationale, bien que le coefficient b soit légèrement inférieur aux valeurs publiées (FishBase : $b = 3,04$), ce qui s'explique en partie par la plage de tailles relativement étroite de l'échantillon (26 cm d'amplitude) et par l'utilisation de la longueur totale plutôt que de la longueur à la fourche comme référence de mesure.

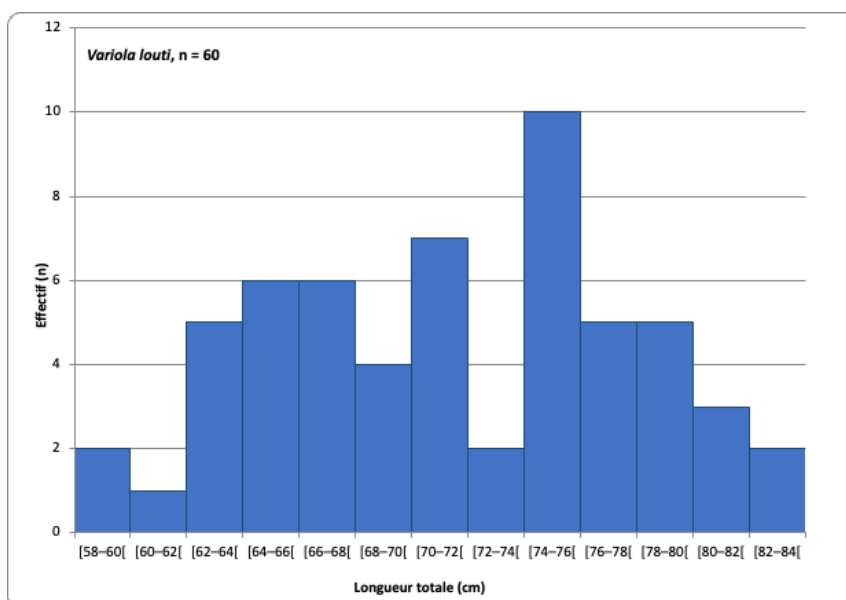


Figure 8a : Distribution des tailles pour *Variola louti*

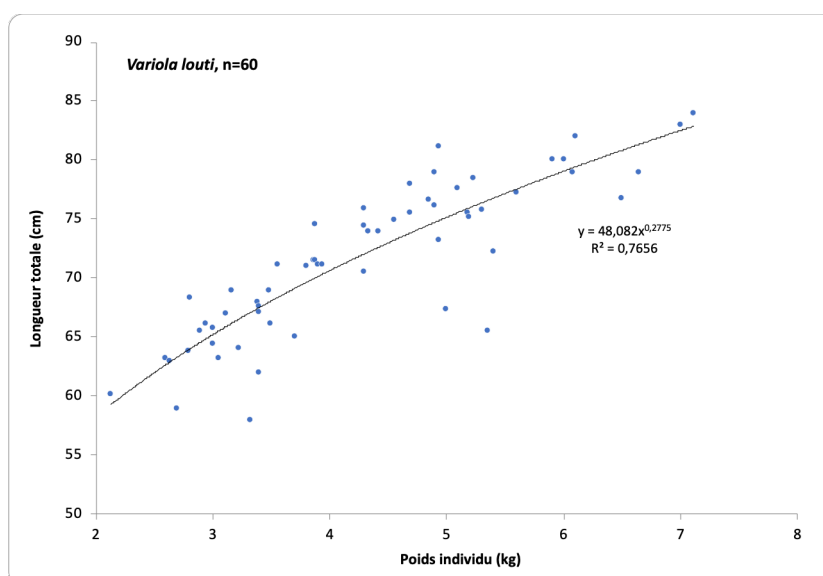


Figure 8b : Relation taille (LT) /poids pour *Variola louti*

Sphyraena barracuda (n = 80) est l'espèce la plus grande et la plus variable biométriquement, avec une longueur totale moyenne de 106,3 cm ($\pm 20,6$ cm ; extrêmes : 69–158 cm) et un poids moyen de 7,26 kg ($\pm 4,83$ kg ; extrêmes : 1,84–23,8 kg) ; la forte dispersion des valeurs reflète l'échantillonnage de classes d'âge très diverses, des jeunes adultes aux très grands individus.

La distribution des tailles (figure 9a), est étalée sur une large gamme de tailles (près de 90 cm d'amplitude) et présente un mode dans la classe [105–110 cm[(n = 11). Aucun individu n'est présent dans les classes [135–140 cm[et [145–150 cm[, ce qui traduit une distribution discontinue aux grandes tailles, probablement liée à la rareté naturelle des très grands barracuda dans les captures. Les individus inférieurs à 85 cm restent peu représentés (n = 12), la majorité de l'échantillon (74 %) se concentrant entre 85 et 135 cm, gamme de tailles correspondant aux adultes couramment capturés à La Réunion.

La relation longueur–poids (figure 9b) de *Sphyraena barracuda* à La Réunion (n = 79) est très bien ajustée ($r^2 = 0,948$), avec un coefficient d'allométrie $b = 3,10$ traduisant une légère allométrie positive

: les grands individus sont proportionnellement plus lourds que les petits. Cette relation est vérifiée sur l'ensemble de la gamme échantillonnée (1,84–23,8 kg), bien qu'une dispersion croissante soit observée aux grandes tailles. La comparaison avec les données de la littérature internationale (FishBase : $b = 2,93$; Florida Keys, Davis & Hood 2003 : $b = 2,97$) confirme la cohérence de la relation établie à La Réunion, les poids prédits s'écartant de moins de 10 % des valeurs de référence.

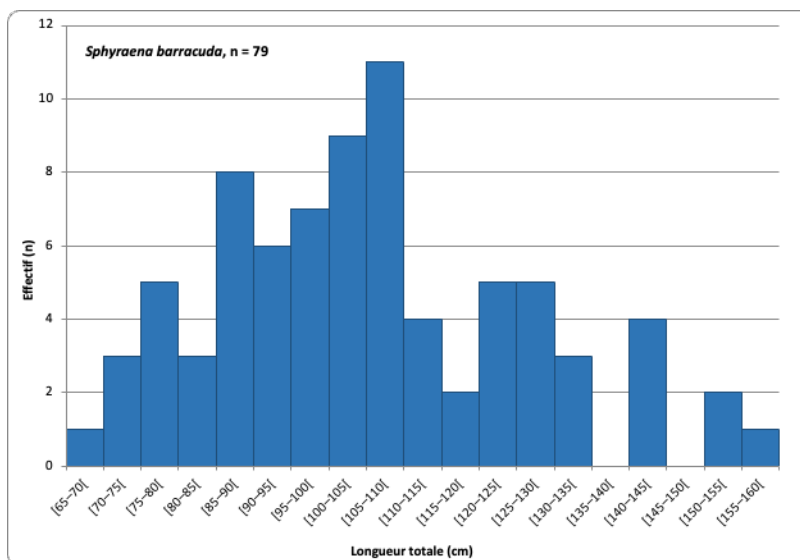


Figure 9a : Distribution des tailles pour *Sphyraena barracuda*

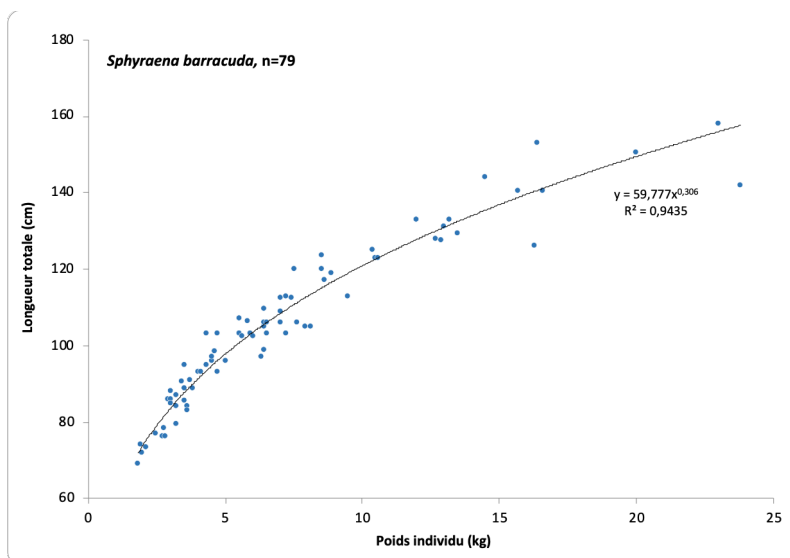


Figure 9b : Relation taille (LT) / poids pour *Sphyraena barracuda*

3.2. Analyses de la toxicité par Neuro-2A

3.2.1. Analyse globale

Tous les échantillons de chair et de foie ont été analysés par cytotoxicité Neuro2A. Un total de 59 séries d'analyses ont été réalisées dans le programme EVACIGUA en intégrant les analyses refaites suite à la difficulté rencontrée avec l'étalon, et les analyses complémentaires de confirmation ou de purification qui ont été réalisées.

Les résultats globaux obtenus pour les chairs sont présentés dans le tableau 5. Les limites de quantification (LQ) obtenues pour l'ensemble des espèces analysées en chair témoignent de la bonne sensibilité du test neuroblastome N2a pour nos séries d'analyse. Les valeurs moyennes de LQ sont homogènes entre espèces, comprises entre 0,00078 et 0,00148 pg éq. CTX1B / mg de chair, avec des écarts-types faibles, ce qui reflète une reproductibilité très satisfaisante et une stabilité des performances analytiques tout au long du projet.

Sur les 174 échantillons de chair analysés à La Réunion, 43 se sont révélés positifs (24,7 %), c'est-à-dire qu'une toxicité a été détectée par le test de cytotoxicité. 18 dépassent le seuil sanitaire de l'EFSA fixé à 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair (soit 10,3 % du total).

Tableau 5 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de chair par cytotoxicité Neuro -2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair, LQ = limite de quantification.

Espèce	N analysés	N positifs (> LQ)	% positifs	N > seuil EFSA (0,01)	% > seuil EFSA	LQ moyenne (pg/mg)	LQ écart-type (pg/mg)
<i>Variola louti</i>	65	21	32,3%	10	15,4%	0,0012	0,0010
<i>Sphyræna barracuda</i>	80	17	21,3%	5	6,3%	0,0015	0,0024
<i>Lutjanus bohar</i>	4	3	75,0%	2	50,0%	0,0011	0,0003
<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	2	2	100,0%	1	50,0%	0,0008	0,0001
<i>Pterois miles</i>	20	0	0,0%	0	0,0%	0,0012	0,0002
<i>Pterois antennata</i>	3	0	0,0%	0	0,0%	0,0011	0,0002
TOTAL	174	43	24,7%	18	10,3%		

Les taux de contamination sont très contrastés selon les espèces.

Les *Lutjanus* présentent les prévalences les plus élevées — 75 % pour *L. bohar* (3 positifs sur 4) et 100 % pour *L. argentimaculatus* (2 sur 2) — bien que leurs effectifs réduits imposent la prudence dans l'interprétation.

Les *Variola louti* affichent un taux de positivité de 32 % (21 sur 65), avec 10 individus dépassant le seuil EFSA, soit 15 % de l'effectif.

Les *Sphyræna barracuda* présentent une prévalence plus modérée (21 %, 17 sur 80) mais les niveaux mesurés sont les plus élevés de l'étude, avec 5 individus au-dessus du seuil EFSA et une valeur maximale exceptionnelle à 0,607 pg éq. CTX1B / mg de chair.

Les deux espèces de *Pterois* (n = 23 au total) sont en revanche négatifs dans l'ensemble de leurs échantillons de chair, ne montrant aucune contamination détectable au-dessus de la LQ.

3.2.2. Analyses pour *Variola louti*

Le tableau 6 synthétise les résultats obtenus pour *Variola louti*. Sur les 65 échantillons de chair analysés, 21 se révèlent positifs (soit 32,3 %), dont 10 dépassent le seuil sanitaire de l'EFSA (15,4 %). Les niveaux mesurés sur les positifs restent globalement modérés, avec une moyenne de 0,015 pg éq.

CTX1B / mg de chair ($\pm 0,023$) et une médiane à 0,006 pg éq. CTX1B / mg de chair, la distribution étant fortement asymétrique avec un maximum à 0,097 pg éq. CTX1B / mg de chair.

Le foie présente une prévalence nettement supérieure (49,2 %, 31 positifs sur 63), avec 29 individus au-dessus du seuil EFSA (46,0 %). Les niveaux de toxicité dans les foies sont également bien plus élevés, avec une moyenne des positifs à 0,100 pg éq. CTX1B / mg de foie ($\pm 0,135$) et une médiane à 0,045 pg éq. CTX1B / mg de foie, soit environ 7 fois supérieure à celle observée en chair.

Tableau 6 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de chair et de foie de *Variola louti* par cytotoxicité Neuro-2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair, LQ = limite de quantification

Matrice	N analysés	N positifs (> LQ)	% positifs	N > seuil EFSA (0,01)	Moy positifs (pg/mg)	ET positifs (pg/mg)	Min (pg/mg)	Max (pg/mg)	LQ moy (pg/mg)	LQ ET (pg/mg)
Chair	65	21	32,3%	10	0,0152	0,0229	0,0008	0,0973	0,0012	0,0010
Foie	63	31	49,2%	29	0,0998	0,1351	0,0074	0,5454	0,0085	0,0075

L'analyse des 63 paires individuelles chair–foie révèle que 29 individus sont négatifs dans les deux matrices, tandis que 15 présentent un foie positif avec une chair encore sous la limite de quantification, illustrant la capacité du foie à concentrer les toxines non encore détectable dans la chair.

Sur les 16 paires doublement positives, le ratio foie/chair atteint une médiane de $\times 14$ et peut dépasser $\times 75$ pour les individus les plus contaminés.

Relation taille–toxicité (chair) : aucune corrélation significative (Spearman $r = 0,238$, $p = 0,067$). Les positifs, y compris ceux dépassant le seuil EFSA, se répartissent sur l'ensemble de la gamme de longueurs (63–84 cm), sans seuil de taille discriminant (cf. figure 10). La taille n'est donc pas un prédicteur fiable du risque pour cette espèce dans cet échantillon.

Relation poids–toxicité (chair) : corrélation faible mais statistiquement significative ($r = 0,319$, $p = 0,010$). Cette tendance est cependant à interpréter avec prudence : elle reflète probablement davantage le fait que les individus les plus lourds ont une probabilité légèrement plus élevée d'être positifs, sans que le niveau de toxicité soit proportionnel au poids. Sur les seuls individus positifs, la corrélation disparaît ($r = 0,073$, $p = 0,75$) (cf. figure 11).

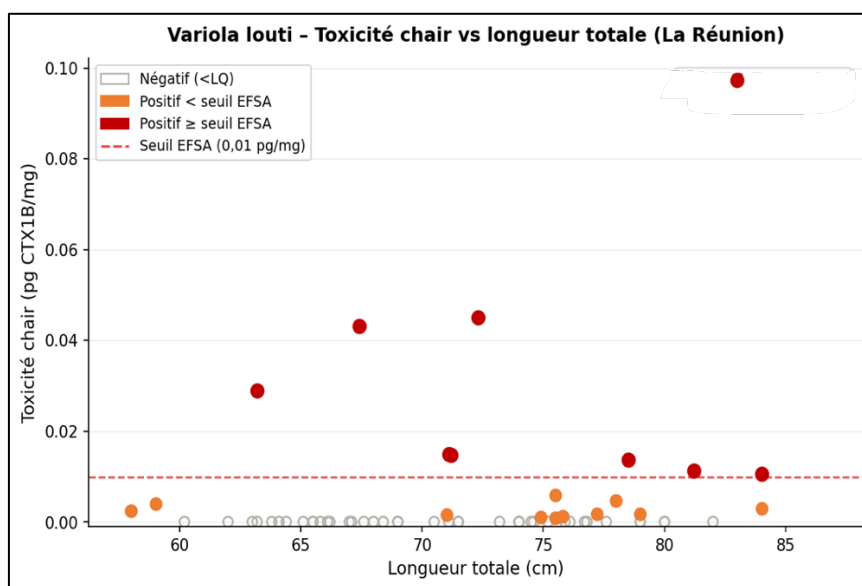


Figure 10 : Relation taille (LT cm) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour *Variola louti*.

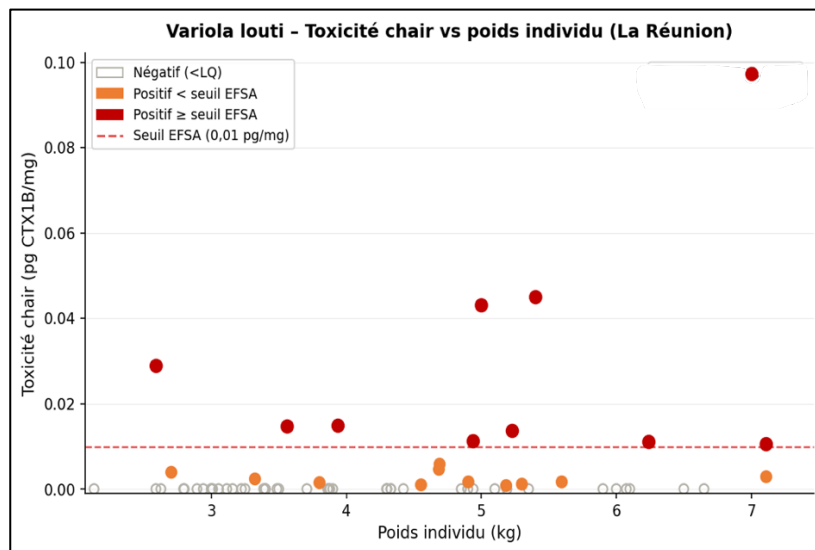
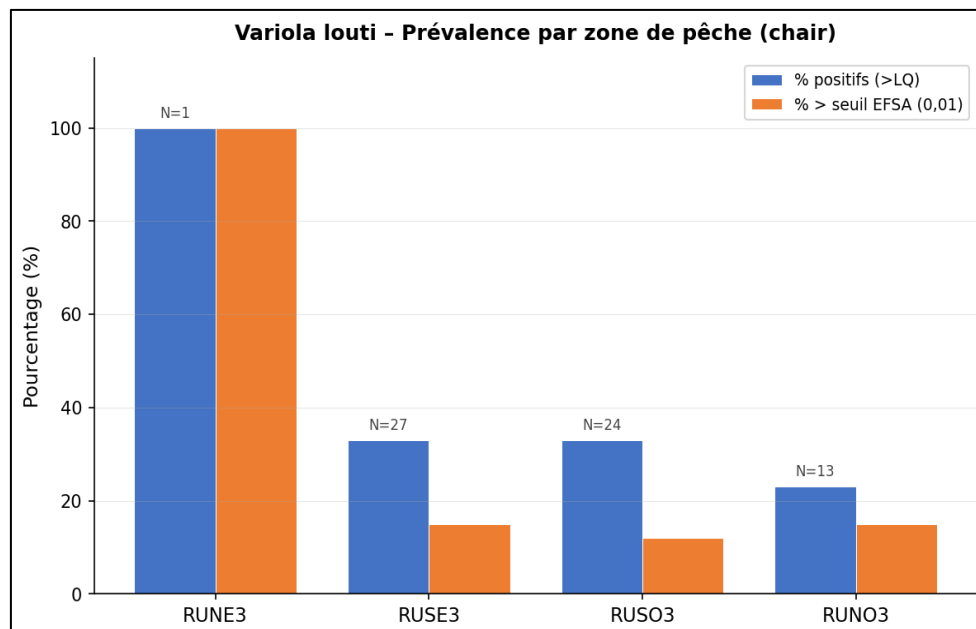
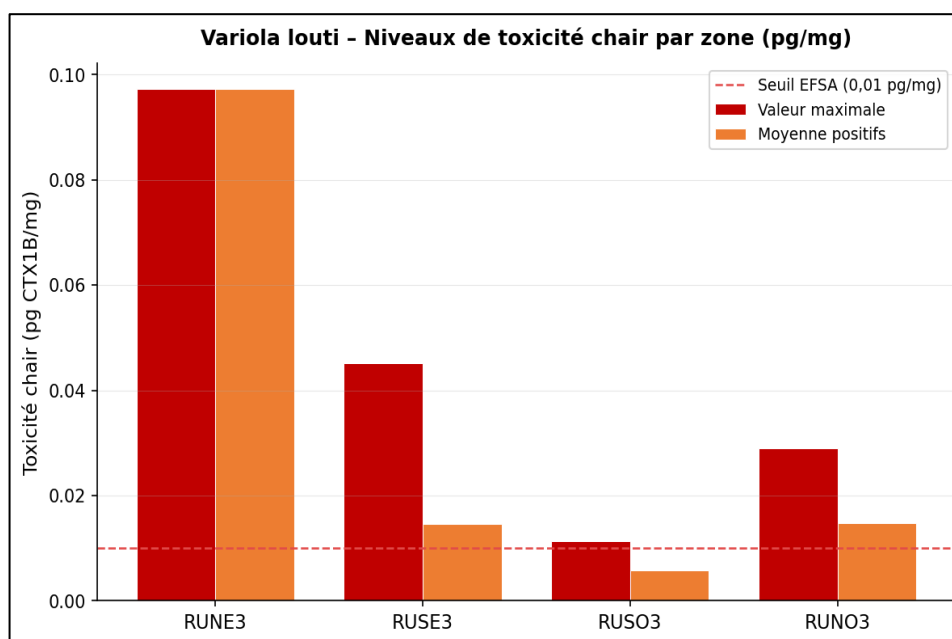


Figure 11 : Relation poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Variola louti.

Répartition géographique (figures 12 a et b) : la prévalence est comparable entre RUSE3 et RUSO3 (33 % chacune), légèrement plus faible en RUNO3 (23 %). La zone RUSE3 affiche 100 % mais n'est représentée que par un seul individu, ce qui interdit toute conclusion. Les niveaux maximaux en chair sont plus élevés en RUSE3 (0,045 pg/mg) et RUNO3 (0,029 pg/mg) qu'en RUSO3 (0,011 pg/mg), sans gradient géographique clair. L'ensemble confirme une contamination diffuse et hétérogène, non structurée spatialement à l'échelle des zones SIH.



Figures 12a : Prévalence par zone de pêche pour Variola louti.



Figures 12 b : Toxicité par zone de pêche pour *Variola louti*.

3.2.3. Analyses pour *Sphyraena barracuda*

Le tableau 7 synthétise les résultats obtenus pour *S. barracuda*. Sur les 80 échantillons de chair analysés, 17 se révèlent positifs (soit 21,2 %), dont 5 dépassent le seuil sanitaire de l'EFSA (6,2 %). Les niveaux mesurés sur les positifs sont très hétérogènes, avec une moyenne de 0,047 pg éq. CTX1B / mg de chair ($\pm 0,145$) ; la distribution est fortement asymétrique, tirée par un individu exceptionnel de la zone RENE3 présentant une valeur de 0,607 pg éq. CTX1B / mg de chair.

Le foie présente une prévalence nettement supérieure (38,5 %, 30 positifs sur 78), avec 28 individus au-dessus du seuil EFSA (35,9 %). Les niveaux de toxicité dans les foies sont nettement plus élevés, avec une moyenne des positifs à 0,818 pg éq. CTX1B / mg de foie ($\pm 3,537$) soit environ 17 fois supérieure à celle observée en chair. Cette dispersion extrême est portée par le même individu exceptionnel de RENE3, dont le foie atteint 19,43 pg éq. CTX1B / mg, valeur maximale absolue de l'ensemble du programme EVACIGUA.

Tableau 7 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de chair et de foie de *Sphyraena barracuda* par cytotoxicité Neuro -2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair, LQ = limite de quantification

Matrice	N analysés	N positifs (>LQ)	% positifs	N > seuil EFSA (0,01)	Moy positifs (pg/mg)	ET positifs (pg/mg)	Min (pg/mg)	Max (pg/mg)	LQ moy (pg/mg)	LQ ET (pg/mg)
Chair	80	17	21,3%	5	0,0471	0,1455	0,0016	0,6067	0,0015	0,0024
Foie	78	30	38,5%	28	0,8181	3,5374	0,0096	19,4291	0,0143	0,0574

Sur les 78 paires individuelles chair–foie, 18 individus présentent un foie positif avec une chair encore sous la limite de quantification, confirmant la plus grande sensibilité du foie comme matrice de détection. Le ratio foie/chair sur les 12 paires doublement positives atteint une médiane de $\times 26,5$, soit environ le double du facteur observé chez *Variola louti*.

Relation taille–toxicité (chair) : une corrélation faible est mise en évidence statistiquement significative (Spearman $r = 0,290$, $p = 0,010$). Les positifs se répartissent sur l'ensemble de la gamme de longueurs échantillonnée (88–158 cm), sans seuil de taille discriminant, à l'exception de la valeur maximale absolue (0,607 pg/mg) attribuée à un individu de 133 cm. La tendance reflète la plus grande représentation des grands individus dans les captures que l'existence d'une accumulation progressive liée à la taille. Sur les seuls individus positifs, la corrélation n'est pas significative ($r = 0,148$, $p = 0,57$) (cf. figure 13).

Relation poids–toxicité (chair) : De même que pour la taille, une corrélation faible mais significative est mise en évidence ($r = 0,267$, $p = 0,017$). Cette tendance disparaît lorsque l'analyse se limite aux individus positifs ($r = 0,102$, $p = 0,70$), indiquant que le poids conditionne légèrement la probabilité d'être positif sans pour autant prédire le niveau de contamination. La forte valeur aberrante (individu de 12 kg, foie à 19,43 pg/mg) contribue significativement à cette relation et son retrait affaiblirait davantage le coefficient (cf. figure 14).

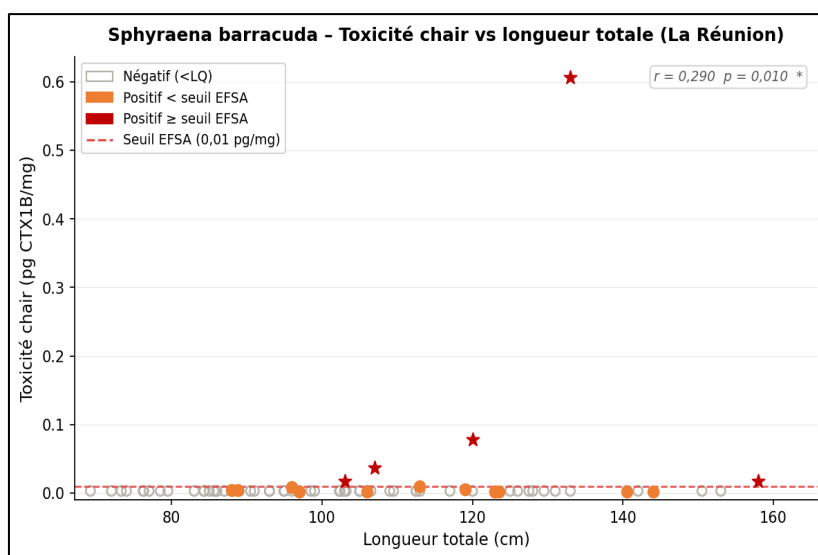


Figure 13 : Relation taille (LT cm) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour *Sphyræna barracuda*.

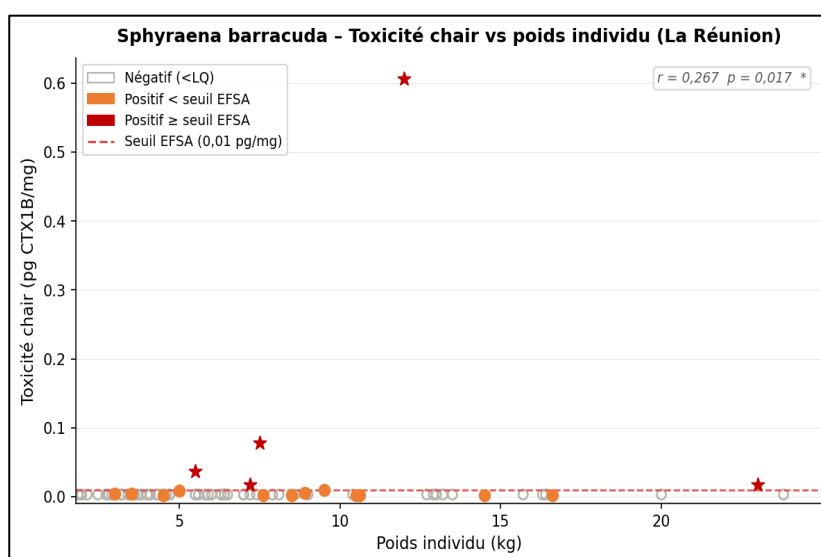
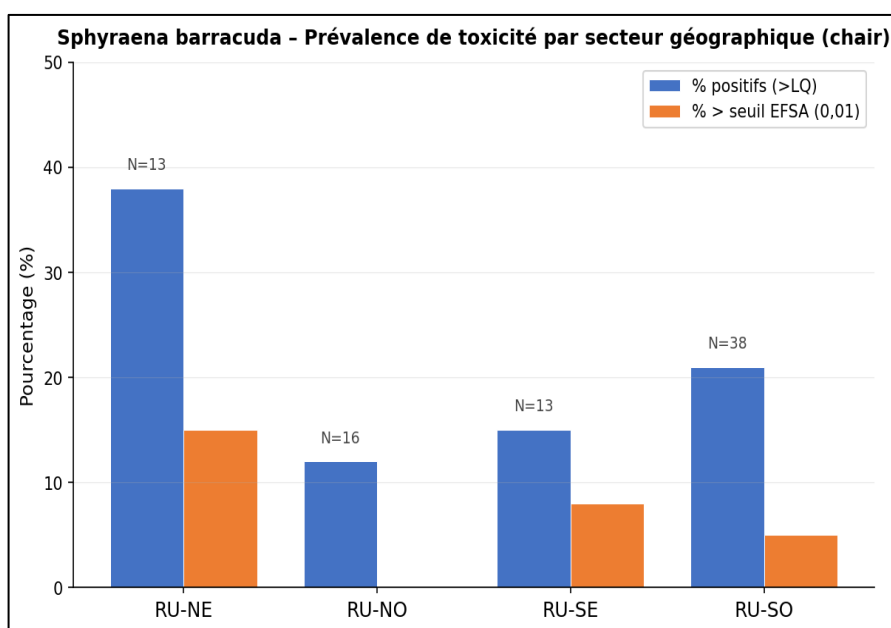
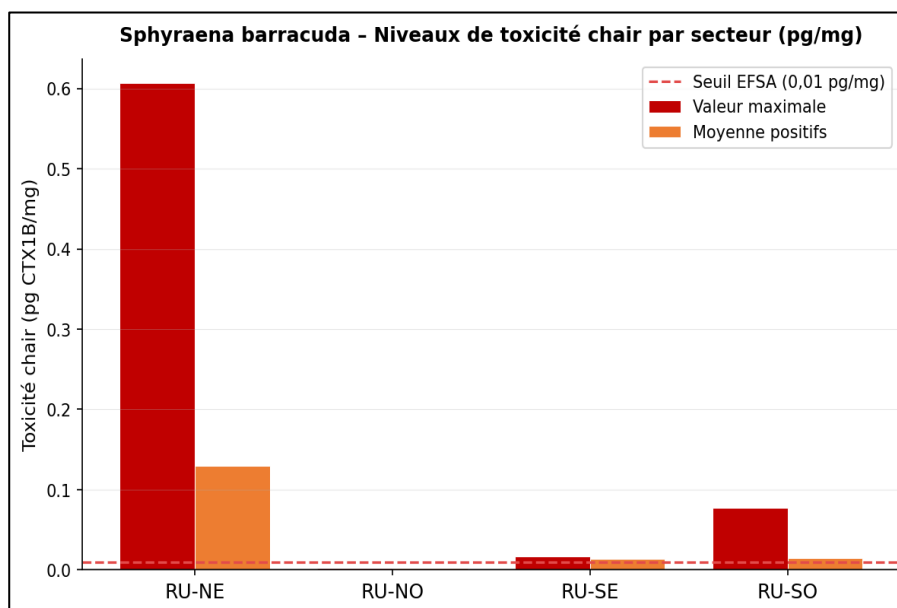


Figure 14 : Relation poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour *Sphyræna barracuda*.

Répartition géographique (figures 15 a et b): l'échantillonnage a été réparti dans les 4 secteurs géographiques en regroupant zones côtières et hauturières. Le secteur Sud-Ouest (RU-SO, N = 38) concentre l'essentiel de l'effort d'échantillonnage avec une prévalence de 21 % (8 positifs) et deux dépassements du seuil EFSA ; c'est également le secteur le mieux représentatif de la pêche réunionnaise au barracuda. Le secteur Nord-Est (RU-NE, N = 13) présente le taux de positivité le plus élevé (38 %, 5 positifs sur 13) et les niveaux de contamination les plus importants, avec une valeur maximale absolue de 0,607 pg/mg en chair et 19,43 pg/mg en foie, portées par un seul individu exceptionnel de la zone RENE3. Le secteur Sud-Est (RU-SE, N = 13) affiche une prévalence modérée de 15 % avec un dépassement EFSA. Le secteur Nord-Ouest (RU-NO, N = 16) est le moins contaminé, avec seulement 12 % de positifs et aucun dépassement du seuil EFSA. Comme pour *Variola louti*, la contamination apparaît diffuse et spatialement hétérogène, sans gradient géographique structuré à l'échelle de l'île ; il existe tout de même un contraste Nord-Est / Nord-Ouest qui mériterait attention, le secteur Nord-Est concentrant à la fois les prévalences et les niveaux de toxicité les plus élevés.



Figures 15 a : Prévalence par zone de pêche pour *Sphyraena barracuda*.



Figures 15 b : Toxicité par zone de pêche pour *Sphyraena barracuda*.

3.2.4. Analyses comparatives avec des cas d'intoxications

Le Citeb dispose de plusieurs échantillons références issus de reste de repas toxique de TIAC (Toxi-Infection Alimentaire Collective). Trois restes de repas ont mis en cause des *Variola louti* de la zone dans des TIAC entre 2015 et 2026 (origines, 2015 : Maurice ; 2023 : Réunion ; 2026 : Rodrigues). Ils ont été analysés par la même méthode cellulaire Neuro 2A ; les résultats sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de reste de repas toxique de *Variola louti* par cytotoxicité Neuro -2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair.

Référence / Espèce	Date TIAC	Matrice	Toxicité N2a (pg/mg)	LQ (pg/mg)	Statut vs EFSA
15/41 – <i>Variola louti</i>	25/03/2015	Reste de repas	3,2229	0,1577	×323 EFSA
23/46 – <i>Variola louti</i>	11/06/2023	Reste de repas	0,2556	0,0053	×26 EFSA
26/01 – <i>Variola louti</i>	28/03/2026	Reste de repas	0,6796	0,0161	×68 EFSA

Les concentrations mesurées en chair s'échelonnent de 0,256 à 3,223 pg éq. CTX1B/mg, pour une moyenne de 1,386 pg éq. CTX1B/mg. Ces trois valeurs dépassent le seuil réglementaire EFSA d'un facteur allant de 26 à 323 selon l'individu.

Le tableau 9 compare les données obtenues des *Variola louti* et *Sphyraena barracuda* toxiques de EVACIGUA à ces valeurs obtenues des TIAC.

Tableau 9 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de *Variola louti* et *Sphyraena barracuda* par cytotoxicité Neuro -2A, (pg éq. CTX1B / mg de chair) comparé avec les valeurs issues des données de TIAC.

Espèce	N analysés	N positifs	% positifs	Moy. positifs (pg/mg)	Max (pg/mg)	Facteur TIAC moy / moy EVACIGUA
<i>Variola louti</i>	65	21	32 %	0,0146	0,0970	×95
<i>Sphyraena barracuda</i>	80	17	21 %	0,0473	0,6070	×29

La comparaison des niveaux de concentration en CTX mesurés dans les échantillons TIAC avec ceux du projet EVACIGUA met en évidence des différences très marquées. La moyenne des *V. louti* positifs (0,015 ppb) est environ 95 fois inférieure à la moyenne des trois TIAC (1,386 ppb), la valeur maximale observée (0,097 ppb) reste 2,6 fois en dessous du minimum TIAC (0,256 ppb). Chez *S. barracuda*, l'échantillon le plus toxique à 0,607 ppb est le seul spécimen EVACIGUA approchant la zone TIAC, tout en restant inférieur.

Ces résultats montrent que la grande majorité des poissons positifs détectés dans le projet EVACIGUA se situent à des concentrations inférieures aux cas de TIAC dont les restes de repas ont été analysés au Citeb. Ces trois échantillons de TIAC disponibles correspondent exclusivement à des cas ayant entraîné une hospitalisation, donc parmi les plus sévères cliniquement observés à La Réunion.

Les intoxications légères à modérées ne sont très majoritairement pas déclarées et non documentées analytiquement, comme cela est reconnu à l'échelle mondiale pour la ciguatera (Chinain et al., 2021), La valeur guide de 0,01 ppb éq. CTX1B retenue par l'EFSA (2010) repose elle-même sur des bases scientifiques fragiles, comme l'EFSA l'a explicitement reconnu dans son avis. Le LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) de 0,1 µg CTX1B éq. / repas qui la fonde n'est étayé que par un très

faible nombre de cas documentés avec une quantification analytique fiable des toxines dans le repas incriminé, principalement issus de quelques études aux Antilles et en Australie. Les données de relation dose-réponse pour la ciguatera demeurent à ce jour extrêmement lacunaires à l'échelle mondiale, et des études permettant d'établir un LOAEL robuste font partie des priorités internationales pour mieux caractériser le risque.

3.3. Recherche des analogues des CTX par UPLC MSMS

Un sous-ensemble de 18 échantillons présentant les activités toxiques les plus élevées en test cellulaire N2a a été soumis à une analyse par chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC–MS/MS), afin de caractériser les profils de congénères de ciguatoxines (CTX) dans les deux espèces. Six congénères ont été identifiés et confirmés, appartenant à deux groupes chimiques distincts : trois CTX pacifiques (CTX1B, 52-epi-54-désoxyCTX1B et 54-désoxyCTX1B) et trois CTX indiennes (I-CTX-1, I-CTX-2 et I-CTX-4). Cf tableau 10.

Pour *Variola louti* (5 spécimens analysés, soit 10 échantillons chair et foie), seules des CTX pacifiques du groupe CTX1B ont été détectées. CTX1B est le congénère dominant, présent dans les foies de quatre des cinq individus, avec des concentrations allant jusqu'à 0,181 µg éq. CTX1B/kg pour le foie de l'individu 23/108. Les congénères 52-epi-54-désoxyCTX1B et 54-désoxyCTX1B ont été co-détectés uniquement dans ce même foie (respectivement 0,032 et 0,031 µg/kg). Aucune CTX indienne n'a été détectée chez cette espèce.

Pour *Sphyraena barracuda* (4 spécimens analysés, 8 échantillons chair et foie), les profils sont plus diversifiés et incluent des CTX des deux groupes. CTX1B a été détecté dans deux foies (0,015 et 0,073 µg/kg respectivement pour les individus 23/120 et 24/70). Les CTX indiennes ont été identifiées dans deux spécimens : l'individu 23/107, qui constitue le cas le plus remarquable, présente des concentrations très élevées d'I-CTX-1 (0,263 µg/kg en foie), d'I-CTX-2 (4,954 µg/kg en foie et 0,091 µg/kg en chair) et d'I-CTX-4 (1,371 µg/kg en foie et 0,668 µg/kg en chair) ; l'individu 23/120 présente quant à lui de l'I-CTX-1 (0,361 µg/kg) et de l'I-CTX-2 (0,288 µg/kg) dans le foie. À noter que l'individu 24/70 présente de l'I-CTX-2 dans le foie (0,059 µg/kg), en plus de CTX1B.

Plusieurs enseignements ressortent de ces résultats. D'une part, les P-CTX du groupe CTX1B sont présentes dans les deux espèces, ce qui confirme la présence forte des toxines ciguatoxines dites du « pacifiques » dans l'océan Indien. Ces résultats sont en cohérence avec les travaux antérieurs décrits par Barreiro-Crespo *et al.* (2025a).

D'autre part, et de façon plus originale, des I-CTX ont été détectées pour la première fois dans *S. barracuda* à La Réunion, alors qu'elles sont absentes chez *V. louti*. Cette différence de profil entre espèces, malgré des niveaux de toxicité globale comparables en test cellulaire, suggère des voies d'exposition ou des dynamiques de biotransformation différentes selon l'espèce.

Enfin, l'individu 23/107 de *S. barracuda*, dont le foie atteint 19,43 µg CTX1B éq./kg en CBA, présente en UPLC–MS/MS une concentration totale en I-CTX nettement inférieure à cette valeur, ce qui laisse supposer que les I-CTX pourraient avoir une toxicité intrinsèque supérieure à celle des P-CTX, et/ou que certains congénères toxiques ne sont pas encore couverts par la méthode instrumentale disponible. Ces hypothèses demeurent à confirmer.

Les ciguatoxines indiennes (I-CTX) ont été décrites pour la première fois par Hamilton et al. (2002a, 2002b) chez des *Lutjanus sebae* de Maurice. Depuis, leur présence a été confirmée à plusieurs reprises dans la région : chez *L. bohar* du banc des 90m (Lenoir, 2006), puis chez un requin bouledogue à Madagascar (Diogène et al., 2017). Dans le cadre d'EVACIGUA des I-CTX (I-CTX-1, -2, -4) sont détectées pour la première fois chez le barracuda à La Réunion.

Tableau 10 : Synthèse des résultats obtenus par UPLC-MS/MS de chair et de foie de *Variola louti* et *Sphyraena barracuda*, µg. CTX1B eq. / kg, LQ = limite de quantification

Ref	Matrice	CTX1B	52-epi-54-déoxyCTX1B	54-déoxyCTX1B	I-CTX-1	I-CTX-2	I-CTX-4
<i>Variola louti</i>							
23/05-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/05-L	Foie	0,073	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/18-F	Chair	0,014	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/18-L	Foie	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/29-F	Chair	0,022	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/29-L	Foie	0,062	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/108-F	Chair	0,036	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/108-L	Foie	0,181	0,032	0,031	<LQ	<LQ	<LQ
24/99-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24/99-L	Foie	0,018	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
<i>Sphyraena barracuda</i>							
23/107-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,091	0,668
23/107-L	Foie	<LQ	<LQ	<LQ	0,263	4,954	1,371
23/120-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
23/120-L	Foie	0,015	<LQ	<LQ	0,361	0,288	<LQ
24/42-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24/42-L	Foie	0,020	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24/70-F	Chair	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24/70-L	Foie	0,073	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

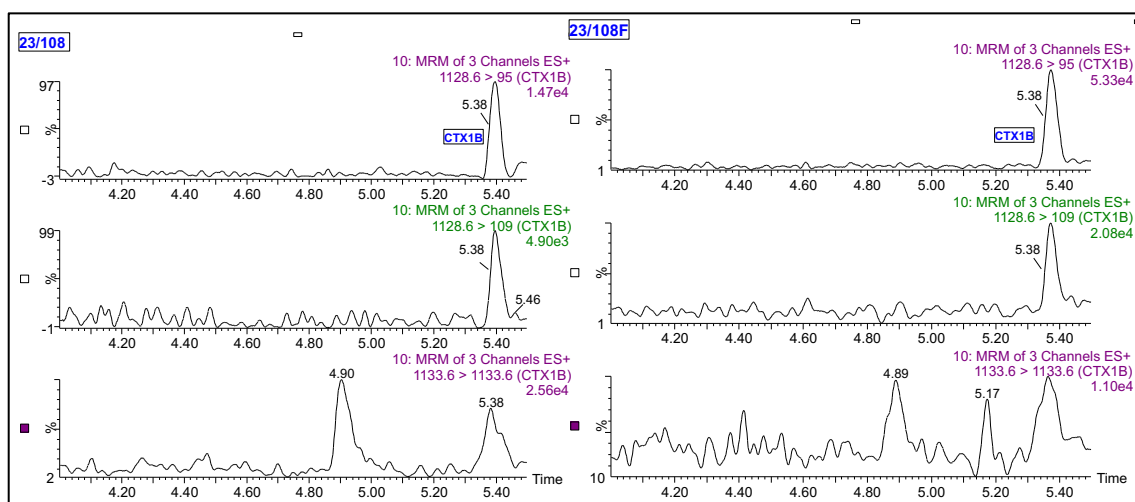


Figure 16 : Exemples de chromatogrammes MRM des transitions détectées pour la CTX1B par LC-MS/MS de *V. louti* 23/108 : (23/108) chair et (23/108F) foie.

3.4. Évaluation du risque par analyse bibliographique de 5 espèces de balistes

Au montage du projet, plusieurs autres espèces étaient d'intérêts pour les pêcheurs professionnels. Une approche bibliographique a été proposée pour les espèces de la famille des *Balistidae*. Elle concerne les 5 espèces les plus souvent citées (tableau 11). Ces espèces n'ont pas été analysées au laboratoire dans ce projet.

Tableau 11 : liste des espèces ciblées pour évaluation bibliographique

Espèce pour étude bibliographique			
Non scientifique	Nom commun	Nom local	Code FAO
<i>Balistoides viridescens</i>	Baliste olivâtre	Bourse gros dents	BDZ
<i>Sufflamen fraenatum</i>	Baliste masqué	Bourse gros dents	UIA
<i>Balistoides conspicillum</i>	Baliste clown	Bourse gros dents	BDK
<i>Canthidermis maculata</i>	Balisterude	Bourse épave, bourse de bois	CNT
<i>Odonus niger</i>	Baliste dents rouges	Bourse noir/vampire	ONI

Plus de 400 espèces de poissons sont considérées comme vecteurs potentiels de ciguatoxines (CTX) (Halstead, 1978 ; FDA, 2013 ; Mattei *et al.*, 2014). Au sein de cette diversité, les Balistidae occupent une position secondaire par rapport aux familles principalement impliquées (Serranidae, Lutjanidae, Sphyraenidae, Carangidae), mais plusieurs espèces font l'objet de signalements documentés. Le niveau des données existantes varie selon les espèces : cas cliniques épidémiologiquement rapportés, détection analytique de CTX dans des poissons commercialisés, ou confirmation analytique couplée à des cas humains (cf. tableau 12).

Pour les cinq espèces ciblées dans EVACIGUA (*B. viridescens*, *S. fraenatum*, *B. conspicillum*, *C. maculata*, *O. niger*), 3 disposent de signalement de cas dans la littérature en dehors des eaux réunionnaises.

Des mortalités humaines et animales domestiques associées à la consommation de *C. maculata* ont été observées en Dominique dans les Caraïbes (Petites Antilles, Antilles britanniques), survenu à la suite du cyclone David en 1979 (Pottier *et al.*, 2001), aucune confirmation analytique ne permet d'incriminer des CTX. De par son caractère semi-pélagique, cette espèce peut être considéré à risque faible.

Pour *B. viridescens* et *B. conspicillum*, des cas avérés sont reportés dans la littérature sans certitude sur la nature exacte des toxines mise en cause.

Ces espèces ne sont pas connues pour être toxique à La Réunion.

Un plan analytique est recommandé si ouverture de la réglementation locale sur ces espèces.

Tableau 12 : synthèse des espèces connues dans la littérature pour être vecteur de ciguatoxines dans le monde

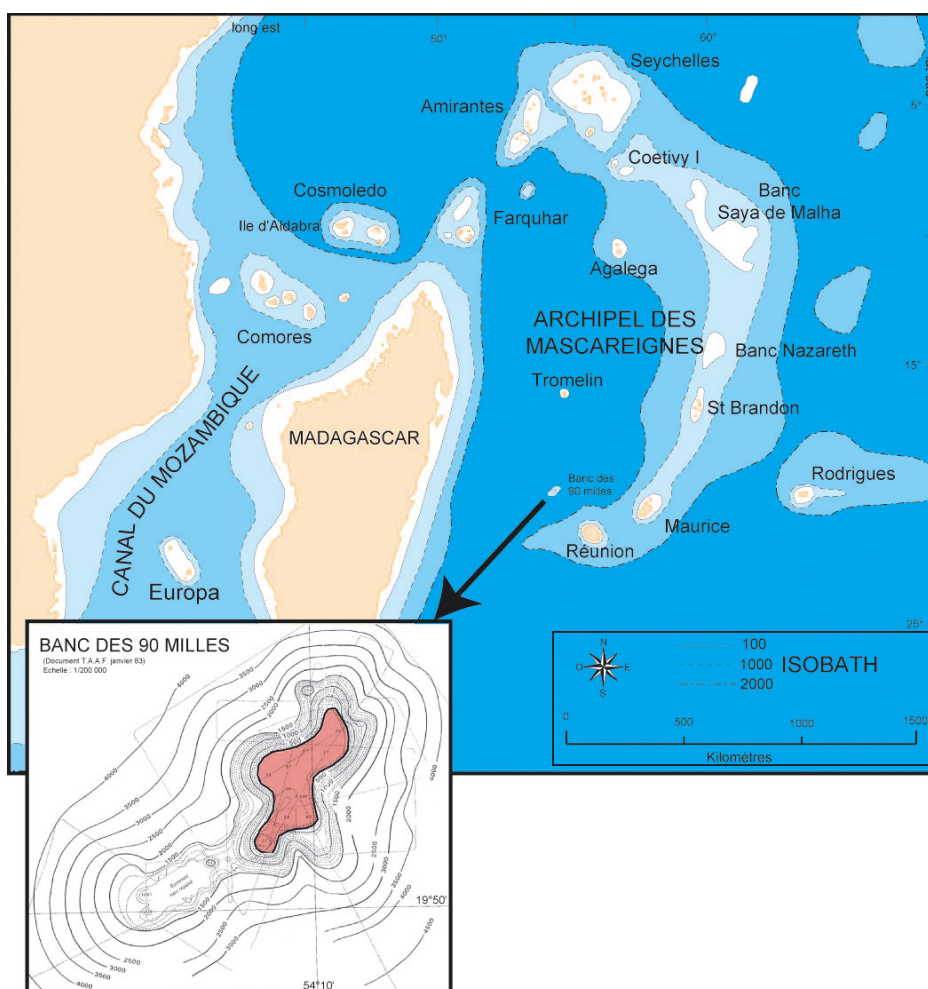
<i>Balistes vetula</i>	Atlantique, Caraïbes, îles Vierges américaines	Détection analytique de CTX par essai CBA-N2a (niveaux 0,01–0,11 ppb C-CTX-1 éq.) sur 20 individus aux USVI. Confirmation LC-MS/MS non concluante : absence de C-CTX-1 malgré cytotoxicité élevée, évoquant des congénères non caractérisés (C-CTX-5). Cas épidémiologiques rapportés dans la littérature caribéenne.	ANALYTIQUE (CBA-N2a confirmé; LC-MS/MS non concluant)	• Loeffler et al. (2018) • Pottier et al. (2023) • Ragelis E.P., (1984) • Halstead B.W. (1978)
<i>Balistoides viridescens</i>	Indo-Pacifique : mer Rouge, Afrique de l'Est, puis vers l'est (dont la Réunion) en passant par le nord de l'Australie jusqu'aux îles Line et Tuamotu, et vers le nord jusqu'au sud du Japon.	Cas de ciguatera rapportés associés à la consommation de cette espèce dans des populations locales indo-pacifiques. Référencé par FishBase comme vecteur de ciguatera. Aucune donnée analytique publiée (CTX) identifiée dans la littérature.	CLINIQUE / ÉPIDÉMIOLOGIQUE	• Myers, R.F., (1991)
<i>Balistoides conspicillum</i>	Indo-Pacifique : de l'Afrique de l'Est vers l'est (dont la Réunion), en passant par le nord de l'Australie, jusqu'aux Samoa ; au nord, jusqu'au sud du Japon.	Cas de ciguatera rapportés associés à la consommation de cette espèce dans des populations locales indo-pacifiques. Référencé par FishBase comme vecteur de ciguatera. Aucune donnée analytique publiée (CTX) identifiée dans la littérature.	CLINIQUE / ÉPIDÉMIOLOGIQUE	Halstead, B.W. et al. (1990)
<i>Balistes capricus</i>	Atlantique Est, Macaronésie (îles Selvagens, Madère)	Détection de CTX (CBA-N2a) dans des individus prélevés aux îles Selvagens dans le cadre du projet EuroCigua. Cas d'intoxications humaines rapportés dans la région (Atlantique Est). Référencé par FishBase comme vecteur de ciguatera.	ANALYTIQUE (CBA-N2a; études EuroCigua) + cas épidémiologiques	• Pottier et al. (2023) • Costa et al. (2021) • Ragelis E.P., (1984) • Halstead B.W. (1978) • Damman A.E. (1969)
<i>Canthidermis maculata</i>	Circumglobal (zones tropicales/subtropicales) : Océan Indien occidental (dont La Réunion, Afrique du Sud), Atlantique, Pacifique	Cas de ciguatera documentés incluant des décès et des réactions chez des animaux domestiques. Référencé par FishBase comme espèce ciguatérigène avérée.	CLINIQUE / ÉPIDÉMIOLOGIQUE	• Ragelis E.P., (1984) • Damman A.E. (1969) • Halstead B.W. (1978) • Chinain et al. (2021)
<i>Pseudobalistes flavimarginatus</i>	Indo-Pacifique tropical (mer Rouge, Afrique du Sud, Japon, Grande Barrière de Corail)	Cas de ciguatera rapportés associés à la consommation de cette espèce dans des populations locales indo-pacifiques. Référencé par FishBase comme vecteur de ciguatera. Aucune donnée analytique publiée (CTX) identifiée dans la littérature.	CLINIQUE / ÉPIDÉMIOLOGIQUE	• Ragelis E.P., (1984) • Myers, R.F., (1991) • Halstead B.W. (1978)

4. Résultats obtenus pour le volet 2 : Banc des 90

4.1. Echantillonnage

Les échantillons de poissons ont été pêchés sur le banc des 90 milles au travers d'une campagne de pêche spécifique (OSIRIS, novembre 2022) et avec l'appui de deux pêcheurs professionnels (PACHA et CHARLES V).

Le plan d'analyse est basé sur des espèces commerciales inscrites dans l'AP de 2009, et ayant fait l'objet d'une première série d'analyses en 2004 (programme AQS/IFOP R01/11 du 13/12/2001, DRAM-RIE IFOP du 4/11/2003). Le plan d'analyse a été adapté et élargi à d'autres espèces à risque mais non réglementées à La Réunion, cela en fonction des résultats des pêches réalisées.



L'échantillonnage du programme EVACIGUA sur le banc des 90 milles (Mont La Pérouse) a porté sur 108 individus répartis en 13 espèces (tableau 13).

Tableau 13 : Nombre d'individus collectés sur le Mont La Pérouse et analysés pour le projet EVACIGUA. * espèce autorisée à la commercialisation par dérogation si pêchée dans les eaux territoriales à La Réunion, ** espèce interdite à la commercialisation (AP 3621 de 2009).

Espèce	Code FAO	N	AP 3621
<i>Aprion virescens</i>	AVR	26	
<i>Caranx ignobilis</i>	NXI	20	*
<i>Caranx lugubris</i>	NXU	27	*
<i>Gymnocranius grandoculis</i>	GMW	14	*
<i>Variola louti</i>	VRL	7	* <2,5 kg
<i>Lutjanus bohar</i>	LJB	4	**
<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	LHB	3	
<i>Gymnocranius griseus</i>	GMR	2	*
<i>Lethrinus olivaceus</i>	LHO	1	
<i>Pristipomoides filamentosus</i>	PFM	1	
<i>Cephalopholis sonnerati</i>	EFT	1	
<i>Gymnosarda unicolor</i>	DOT	1	*
<i>Caranx melampygus</i>	NXM	1	*
TOTAL		108	

Le prévisionnel d'un minimum de 20 spécimen par espèce a été tenue pour 3 espèces (*Aprion virescens*, *Caranx ignobilis* et *Caranx lugubris*) espèces communément pêchées sur le banc des 90. Les *Variola louti* et *Lutjanus bohar* ont été particulièrement ciblés mais les campagnes de pêche pendant le projet n'ont pas permis d'atteindre l'objectif fixé. D'autres espèces capturées et non réglementées ont été intégrées au plan d'analyse, en effet ces espèces sont connues pour être potentiellement contaminées dans d'autre région du monde.

Les espèces échantillonnées présentent des gabarits très contrastés (tableau 14).

Tableau 14 : Données biométriques principales des captures réalisées sur le Mont La Pérouse pour le projet

Espèce	N	L moy (cm)	L ET	L min	L max	P moy (kg)	P ET	P min	P max
<i>Aprion virescens</i>	26	81,3	7,9	62,0	100,7	5,48	1,72	2,20	9,50
<i>Caranx ignobilis</i>	20	85,7	20,5	65,0	149,0	10,38	9,81	3,20	43,00
<i>Caranx lugubris</i>	27	73,0	8,1	58,0	97,5	5,21	2,26	3,30	13,20
<i>Gymnocranius grandoculis</i>	14	32,9	4,3	26,2	40,3	0,64	0,30	0,28	1,15
<i>Variola louti</i>	7	69,1	8,7	56,5	82,5	3,75	1,48	1,97	6,30
<i>Lutjanus bohar</i>	4	57,4	6,4	51,5	63,2	3,00	1,11	1,93	4,07
<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	3	41,7	0,6	41,0	42,0	1,03	0,05	0,97	1,07
<i>Gymnocranius griseus</i>	2	28,5	2,8	26,5	30,5	0,38	0,07	0,33	0,42
<i>Lethrinus olivaceus</i>	1	43,5	—	43,5	43,5	1,38	—	1,38	1,38
<i>Pristipomoides filamentosus</i>	1	69,0	—	69,0	69,0	3,56	—	3,56	3,56
<i>Cephalopholis sonnerati</i>	1	57,0	—	57,0	57,0	3,70	—	3,70	3,70
<i>Gymnosarda unicolor</i>	1	107,0	—	107,0	107,0	16,80	—	16,80	16,80
<i>Caranx melampygus</i>	1	72,0	—	72,0	72,0	5,54	—	5,54	5,54

Gymnocranius grandoculis et *Gymnocranius griseus* sont les plus petites espèces, avec des longueurs moyennes de 32,9 cm ($\pm 4,3$ cm) et 28,5 cm ($\pm 2,8$ cm) respectivement, et des poids inférieurs à 0,5 kg.

À l'opposé, *Caranx ignobilis* est l'espèce la plus grande et la plus variable biométriquement, avec une longueur moyenne de 85,7 cm ($\pm 20,5$ cm ; extrêmes : 65–149 cm) et un poids moyen de 10,4 kg ($\pm 9,8$ kg ; extrêmes : 3,2–43,0 kg). Cette espèce présente la distribution la plus hétérogène. Un premier groupe domine entre 65 et 90 cm ($n = 17$), puis deux individus exceptionnels à 131,8 cm / 31 kg et 149 cm / 43 kg créent une distribution bimodale avec un large vide entre 96 et 131 cm. Ces grands individus, qui représentent les captures les plus lourdes de tout l'échantillonnage EVACIGUA au Banc des 90, contribuent à la forte dispersion biométrique (ET longueur = 20,5 cm, ET poids = 9,8 kg). Malgré cette hétérogénéité, la relation longueur–poids reste très bien ajustée ($r^2 = 0,931$) avec un $b = 3,08$ proche de l'isométrie (figures 18 a et b).

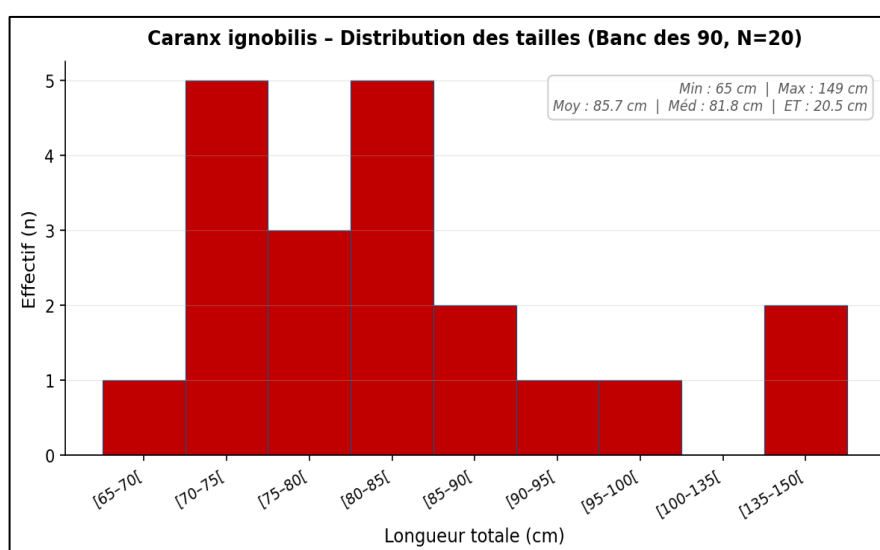


Figure 18a : Distribution des tailles pour *Caranx ignobilis*

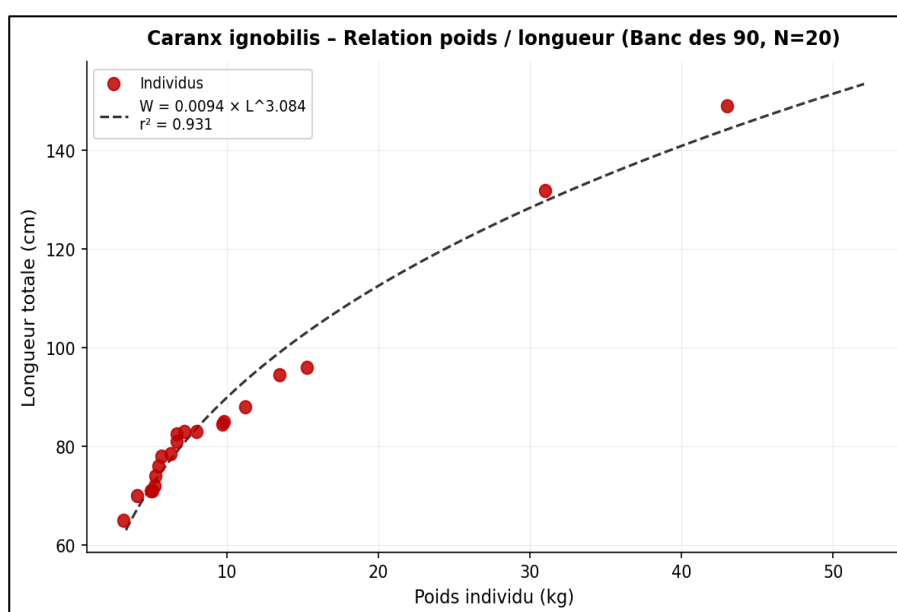


Figure 18b : Relation taille (LT) /poids pour *Caranx ignobilis*

Aprion virescens et *Caranx lugubris* présentent des gabarits intermédiaires et des distributions plus homogènes, respectivement $81,3 \text{ cm} \pm 7,9 \text{ cm}$ / $5,5 \text{ kg} \pm 1,7 \text{ kg}$ et $73,0 \text{ cm} \pm 8,1 \text{ cm}$ / $5,2 \text{ kg} \pm 2,3 \text{ kg}$.

Pour *Aprion virescens* la distribution des tailles est resserrée et unimodale, centrée sur la classe [80–85 cm[(n = 10, soit 38 % de l'effectif). L'étendue atteint désormais 38,7 cm (62–100,7 cm), avec une dispersion modérée (ET = 7,9 cm), reflétant l'intégration de spécimens de plus grande taille dans l'échantillon actualisé. La relation longueur–poids est très bien ajustée ($r^2 = 0,951$) avec un coefficient $b = 3,26$ légèrement supérieur à 3, traduisant une allométrie positive modérée : les grands individus sont proportionnellement un peu plus lourds (figures 19a et b).

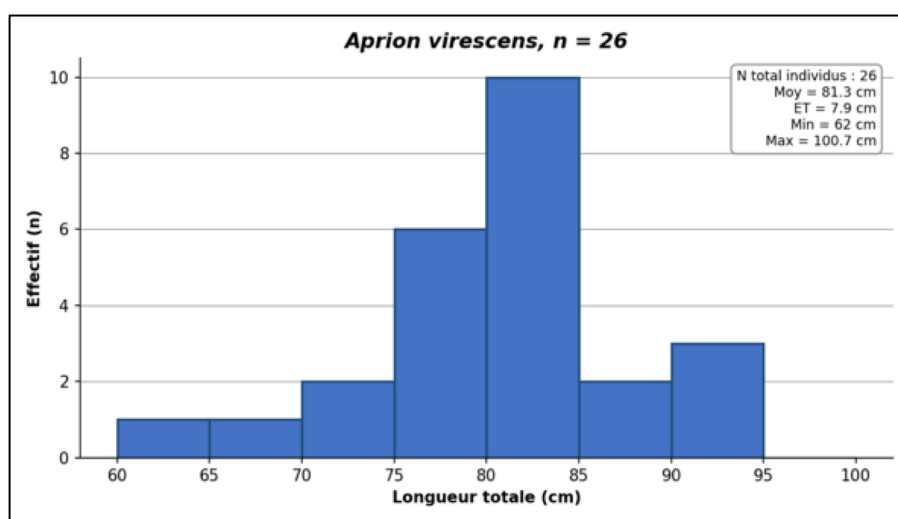


Figure 19a : Distribution des tailles pour *Aprion virescens*

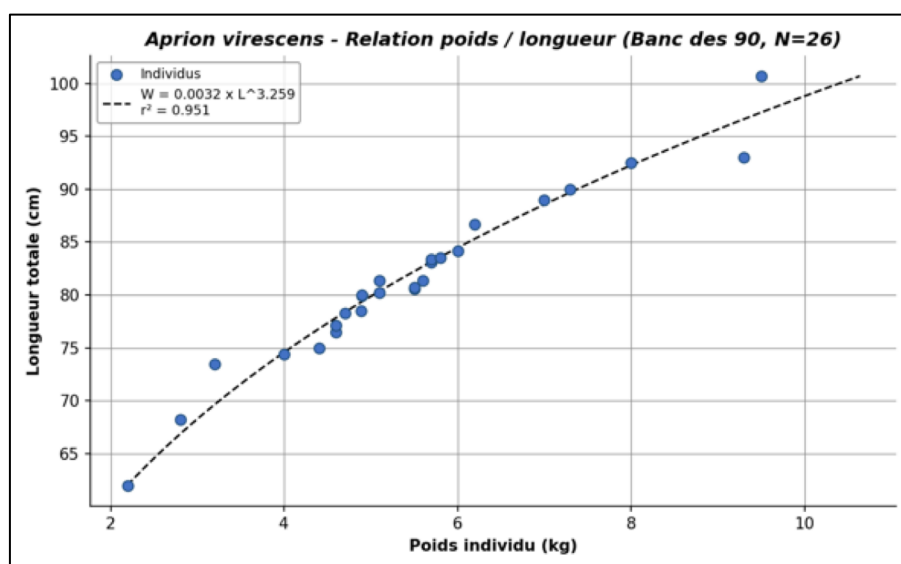


Figure 19b : Relation taille (LT) /poids pour *Aprion virescens*

Pour *Caranx lugubris* la distribution est fortement unimodale avec un mode très marqué sur [70–75 cm[(n = 14, soit 52 % de l'effectif) et une étendue de 39 cm (58–97,5 cm). Deux individus dépassent 90 cm et se démarquent nettement du reste de l'échantillon, suggérant la capture occasionnelle de très grands individus. La relation longueur–poids est bien ajustée ($r^2 = 0,855$) avec $b = 2,78$, légèrement inférieur à 3 (allométrie négative légère), ce qui est cohérent avec la morphologie élancée de cette espèce pélagique (figures 20a et b).

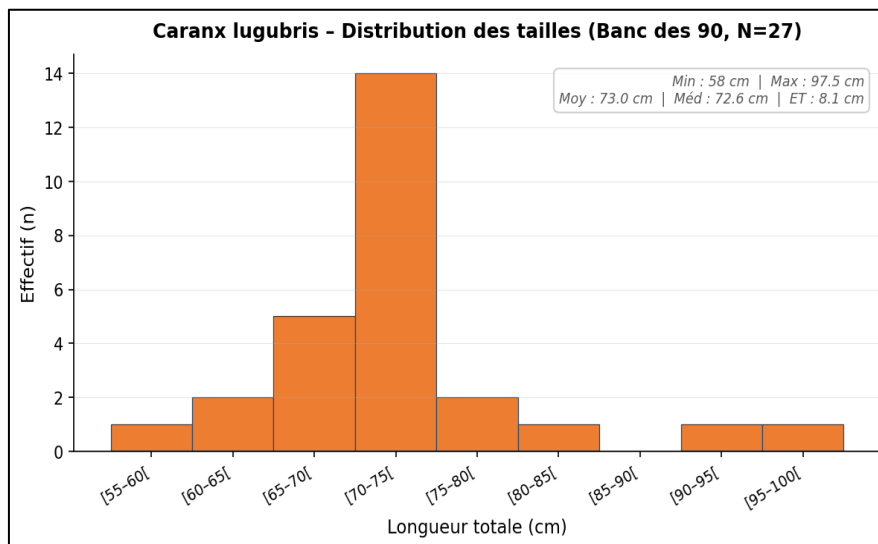


Figure 20a : Distribution des tailles pour *Caranx lugubris*

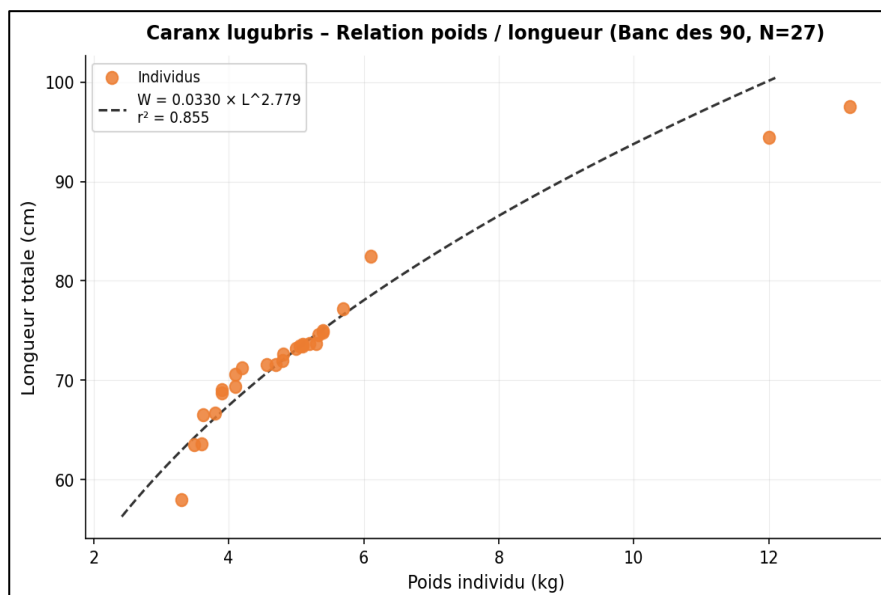


Figure 20b : Relation taille (LT) /poids pour *Caranx lugubris*

Pour *Variola louti* au Banc des 90 (n = 7, longueur moyenne 69,1 cm $\pm$ 8,7 cm, poids moyen 3,8 kg $\pm$ 1,5 kg), les individus présentent un gabarit comparable à celui des individus échantillonnés à La Réunion, bien que l'effectif limité ne permette pas une comparaison statistique robuste.

4.2. Analyses de la toxicité par Neuro-2A

4.2.1. Analyse globale

Tous les échantillons de chair et de foie ont été analysés par cytotoxicité Neuro2A.

Les résultats globaux obtenus pour les chairs des spécimens du banc des 90 sont présentés dans le tableau 15.

Les limites de quantification (LQ) obtenues pour l'ensemble des espèces analysées en chair témoignent de la bonne sensibilité du test neuroblastome N2a pour nos séries d'analyse. Les valeurs moyennes de LQ sont homogènes entre espèces, comprises entre 0,00078 et 0,00148 pg éq. CTX1B / mg de chair, avec des écarts-types faibles, ce qui reflète une reproductibilité très satisfaisante et une stabilité des performances analytiques tout au long du projet.

Sur les 108 échantillons de chair analysés sur le Banc des 90, 58 se sont révélés positifs (53,7 %) c'est-à-dire qu'une toxicité a été détectée par le test de cytotoxicité. 29 dépassent le seuil sanitaire de l'EFSA fixé à 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair (soit 26,9 % du total).

Caranx ignobilis et les *Lethrinus spp* présentent les prévalences les plus élevées, respectivement 80 % (16 positifs sur 20) et 100 % (4 sur 4).

Pour *C. ignobilis*, 9 individus sur 20 dépassent le seuil EFSA (45 %), avec une toxicité moyenne des positifs de 0,011 pg/mg, soit très proche du seuil fixé par l'EFSA.

Les *Lethrinus* (2 espèces), bien que représenté par un faible effectif (N = 4), sont tous positifs et au-dessus du seuil EFSA, avec une valeur maximale de 0,033 pg/mg, ce qui en ferait les espèces les plus préoccupante rapportée à l'effectif.

Lutjanus bohar (N=4, effectif limité) affiche également un taux élevé avec 75 % de positifs (3 sur 4), dont 2 au-dessus du seuil EFSA, et une valeur maximale de 0,054 pg/mg — la plus élevée de toutes les espèces en chair au Banc des 90.

Aprion virescens (N=26) présente 62 % de positifs (16 individus), dont 9 dépassent le seuil EFSA (35 %). La moyenne des positifs est de 0,014 pg/mg avec un maximum à 0,037 pg/mg.

Caranx lugubris (N=27) montre une prévalence plus modérée de 48 % (13 positifs), mais seulement 1 individu dépasse le seuil EFSA, indiquant que la majorité des contaminations reste à des niveaux faibles (moy positifs = 0,005 pg/mg, max = 0,028 pg/mg).

Variola louti (N=7, effectif limité) affiche 57 % de positifs dont 3 au-dessus du seuil EFSA, avec une moyenne des positifs de 0,019 pg/mg et un maximum de 0,029 pg/mg, légèrement inférieur au maximum observé à La Réunion pour cette espèce (0,097 pg/mg).

Cephalopholis sonnerati (N=1) présente un seul positif mais sous le seuil EFSA (0,004 pg/mg).

Caranx melampygus (N = 1) et *Lethrinus olivaceus* (N = 1) sont chacun positifs et au-dessus du seuil EFSA (respectivement 0,021 et 0,018 pg/mg), mais leurs effectifs unitaires ne permettent aucune généralisation.

Gymnocranius grandoculis (N = 14), *Pristipomoides filamentosus* (N = 1) et *Gymnosarda unicolor* (N = 1) sont tous négatifs en chair.

Tableau 15 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de chair (Banc des 90) par cytotoxicité Neuro - 2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair, LQ = limite de quantification.

Espèce	N analysés	N positifs (> LQ)	% positifs	N > seuil EFSA (0,01)	% > seuil EFSA	LQ moyenne (pg/mg)	LQ écart-type (pg/mg)
<i>Aprion virescens</i>	26	16	62%	9	35%	0,0013	0,0010
<i>Caranx ignobilis</i>	20	16	80%	9	45%	0,0016	0,0013
<i>Caranx lugubris</i>	27	13	48%	1	4%	0,0011	0,0005
<i>Gymnocranius grandoculis</i>	14	0	0%	0	0%	0,0008	0,0003
<i>Variola louti</i>	7	4	57%	3	43%	0,0018	0,0018
<i>Lutjanus bohar</i>	4	3	75%	2	50%	0,0012	0,0003
<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	3	3	100%	3	100%	0,0009	0,0003
<i>Gymnocranius griseus</i>	2	0	0%	0	0%	0,0016	—
<i>Lethrinus olivaceus</i>	1	1	100%	1	100%	0,0008	—
<i>Pristipomoides filamentosus</i>	1	0	0%	0	0%	0,0009	—
<i>Cephalopholis sonnerati</i>	1	1	100%	0	0%	0,0006	—
<i>Gymnosarda unicolor</i>	1	0	0%	0	0%	0,0009	—
<i>Caranx melampygus</i>	1	1	100%	1	100%	0,0006	—
TOTAL	108	58	53,7%	29	26,9%		

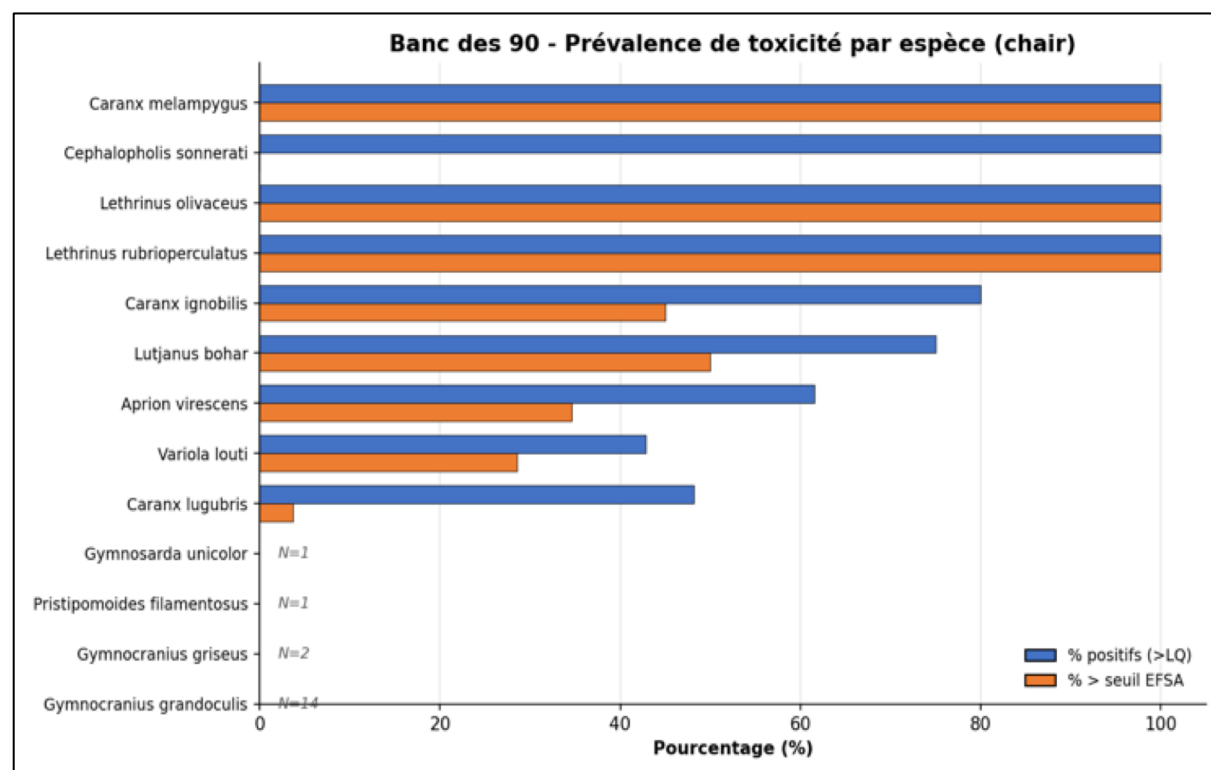


Figure 21 : Prévalence de toxicité par espèce (chair) observée sur le banc des 90.

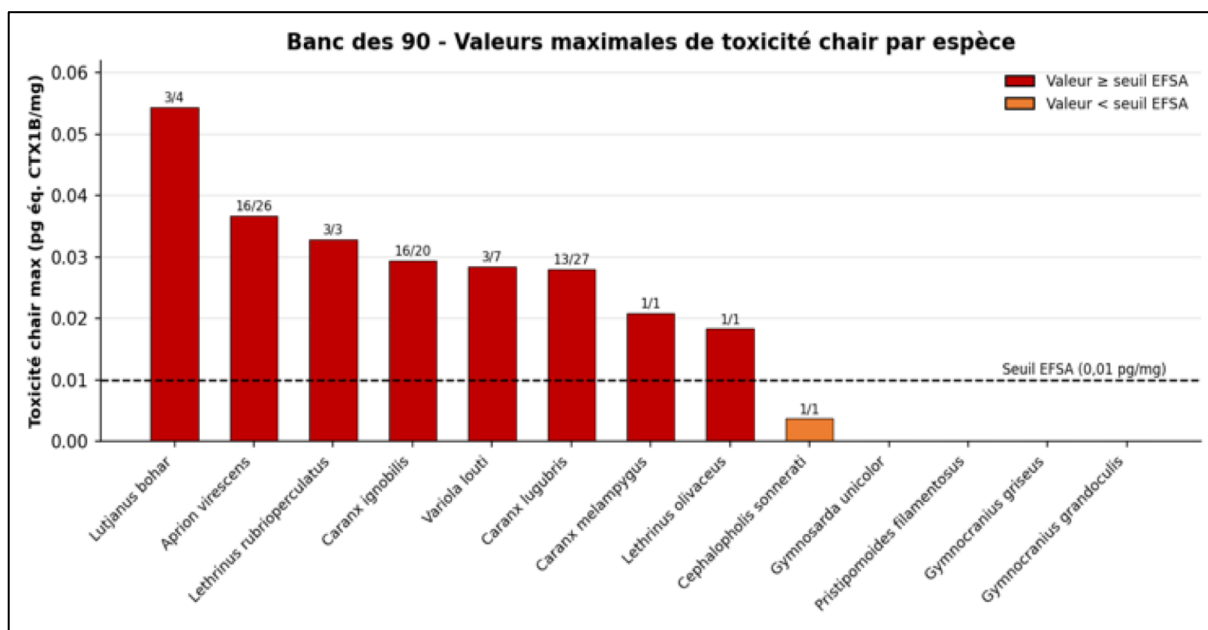


Figure 22 : Toxicité maximale par espèce (chair) observée sur le banc des 90.

4.2.2. Analyses comparatives chair vs foie

Les analyses comparatives chair/foie n'ont été réalisées que pour les quatre espèces les mieux représentées du Banc des 90 (tableau 16). Les résultats confirment la tendance observée à La Réunion : le foie accumule systématiquement les ciguatoxines à des niveaux bien supérieurs à ceux mesurés dans la chair.

Tableau 16 : Synthèse des résultats obtenus des échantillons de chair et foie (Banc des 90) par cytotoxicité Neuro -2A, Seuil EFSA : 0,01 pg éq. CTX1B / mg de chair

Espèce/matrice		N analysés	N positifs (> LQ)	% positifs	N > EFSA	% > EFSA	Moyenne (pg/mg)	Écart-type (pg/mg)	Minimum (pg/mg)	Maximum (pg/mg)	Ratio médian foie / chair
Aprion virescens											
	Chair	26	16	62%	9	35%	0,0141	0,0099	0,0039	0,0368	x 8,0
	Foie	26	21	81%	21	81%	0,1041	0,0887	0,0223	0,3099	
Caranx ignobilis											
	Chair	20	16	80%	9	45%	0,0114	0,0067	0,0020	0,0295	x 4,9
	Foie	20	13	65%	13	65%	0,0712	0,0509	0,0176	0,1941	
Caranx lugubris											
	Chair	27	13	48%	1	4%	0,0053	0,0069	0,0021	0,0281	x 6,2
	Foie	27	4	15%	4	15%	0,0621	0,0866	0,0105	0,1910	
Variola louti											
	Chair	7	4	57%	3	43%	0,0186	0,0104	0,0041	0,0285	x 8,9
	Foie	7	6	86%	6	86%	0,1953	0,2061	0,0397	0,5948	

Pour l'ensemble des espèces considérées, la prévalence en foie est égale ou supérieure à celle de la chair, et la totalité des foies positifs dépasse le seuil sanitaire de l'EFSA, ce qui n'est pas le cas en chair où une fraction non négligeable des positifs reste sous ce seuil.

Variola louti illustre le contraste le plus marqué : alors que seulement 57 % des chairs sont positives (4 sur 7), 86 % des foies le sont (6 sur 7), tous au-dessus du seuil EFSA, avec une moyenne des positifs à 0,195 pg/mg et un maximum à 0,595 pg/mg. Le ratio médian foie/chair atteint x8,9 pour cette espèce.

Aprion virescens présente un profil comparable avec 62 % de chairs positives contre 81 % de foies positifs, un maximum foie à 0,310 pg/mg et un ratio médian de $\times 8,0$.

Caranx ignobilis se distingue par une chair plus contaminée que le foie en termes de prévalence (80 % vs 65 %), ce qui est inhabituel parmi les espèces étudiées ; cependant les niveaux hépatiques restent nettement plus élevés (médiane foie = 0,076 pg/mg vs 0,011 pg/mg en chair, ratio $\times 4,9$).

Enfin, *Caranx lugubris* présente le cas le plus asymétrique : 48 % de chairs positives pour seulement 15 % de foies positifs, bien que les niveaux foie, lorsqu'ils sont détectés, restent importants (max = 0,191 pg/mg, ratio $\times 6,2$).

Ces résultats suggèrent que chez ces espèces de carangue la cinétique d'accumulation ou de métabolisation des CTX dans le foie est différente des autres espèces, et mériterait une investigation approfondie.

4.2.3. Relations taille, poids / toxicité

Une analyse des relations toxicité vs poids total et toxicité vs longueur total ont été réalisées en utilisant le test non paramétrique de Spearman. Les résultats obtenus sur les 4 espèces les mieux représentées sont présentés dans le tableau 17 et les figures 23 à 26.

Tableau 17 : Coefficients de corrélation de Spearman calculées pour toxicité chair vs longueur totale, toxicité chair vs poids total de 4 espèces du banc des 90. Calculs sur tous les individus (valeurs $< LQ = 0$). * = $p < 0,05$ | NS = non significatif.

Espèce	r Tox vs Longueur	p-value	r Tox vs Poids	p-value
<i>Aprion virescens</i>	0,204	0.375 NS	0,343	0.128 NS
<i>Caranx ignobilis</i>	0,421	0.065 NS	0,464	0.039 *
<i>Caranx lugubris</i>	0,518	0.006 *	0,513	0.006 *
<i>Variola louti</i>	0,462	0.356 NS	0,516	0.295 NS

Caranx lugubris est la seule espèce avec deux corrélations significatives ($r = 0,518$ pour la longueur et $r = 0,513$ pour le poids, $p = 0,006$ dans les deux cas) — les individus les plus grands et les plus lourds ont tendance à être plus toxiques.

Caranx ignobilis présente une corrélation significative uniquement pour le poids ($r = 0,464$, $p = 0,039$), mais pas pour la longueur ($p = 0,065$, NS), ce qui s'explique probablement par la présence de deux individus exceptionnellement grands (131 et 149 cm) qui sont négatifs en chair.

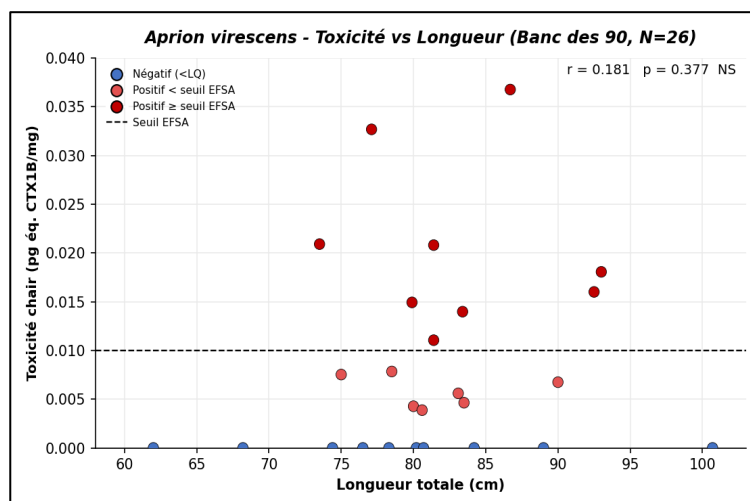


Figure 23a : Relation taille (LT cm) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Aprion virescens.

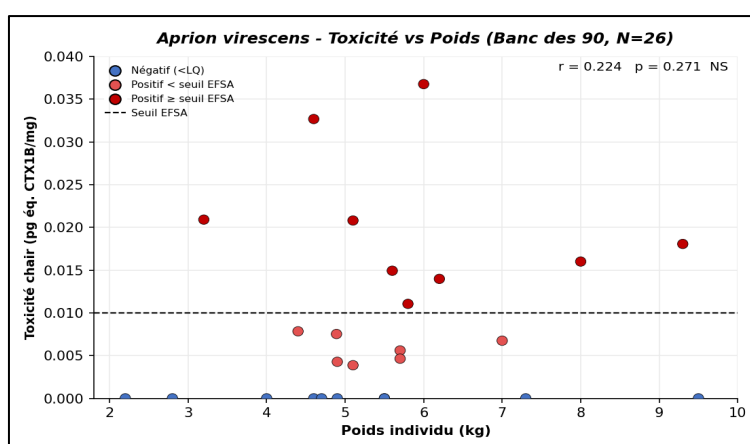


Figure 23b : Relation poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Aprion virescens.

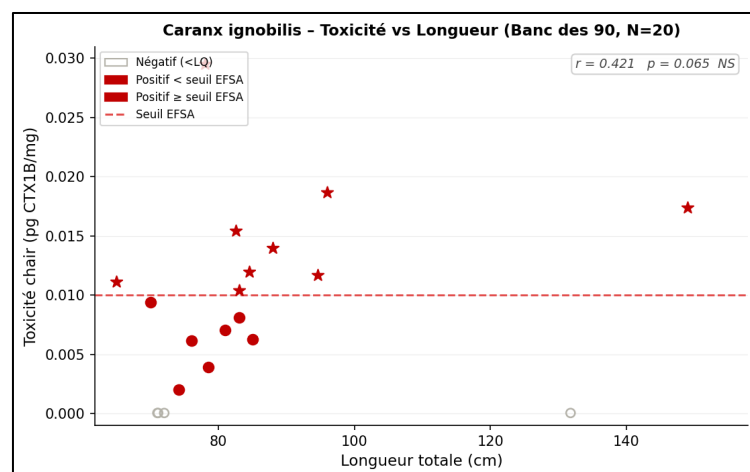


Figure 24a : Relation taille (LT cm) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Caranx ignobilis.

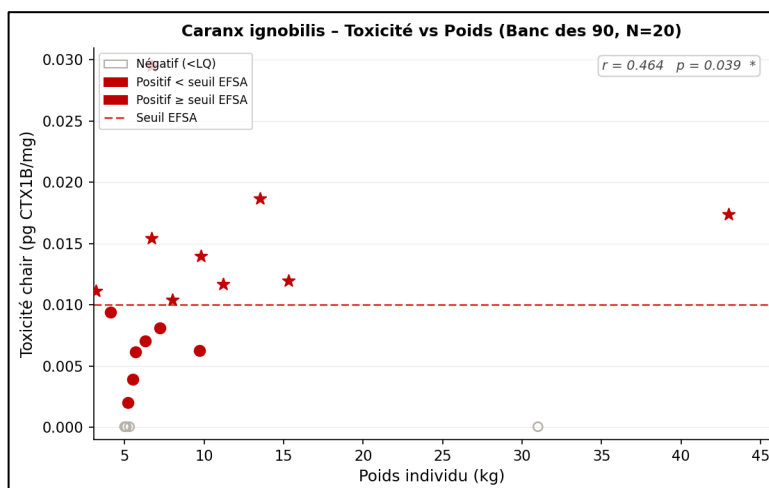


Figure 24b : Relation poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Caranx ignobilis.

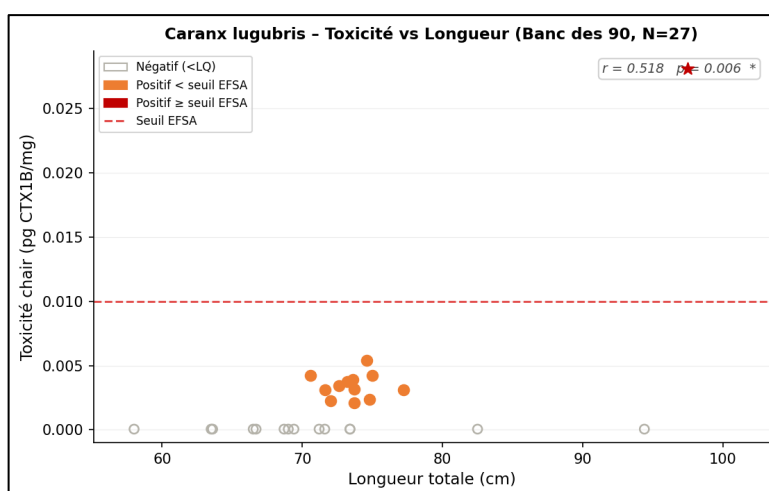


Figure 25a : Relation taille (LT cm) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Caranx lugubris.

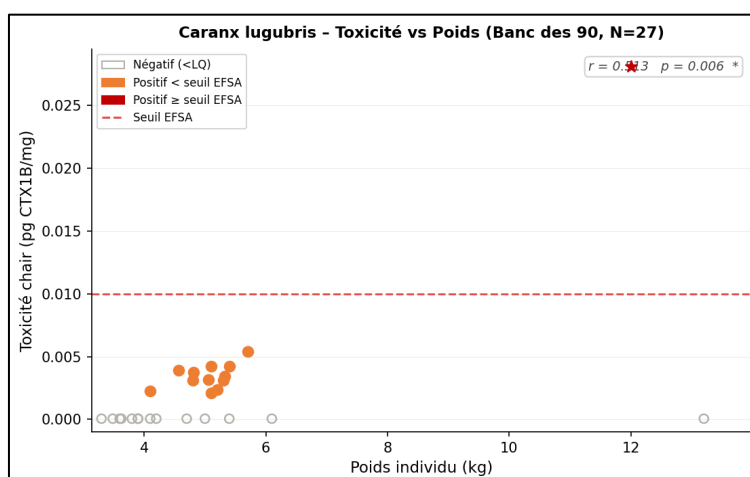


Figure 25b : Relation poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Caranx lugubris.

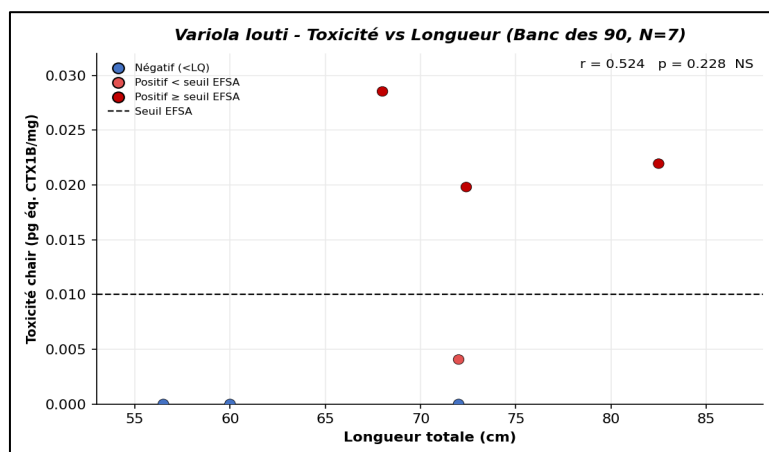


Figure 26a : Relation taille (LT cm) et poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Variola louti

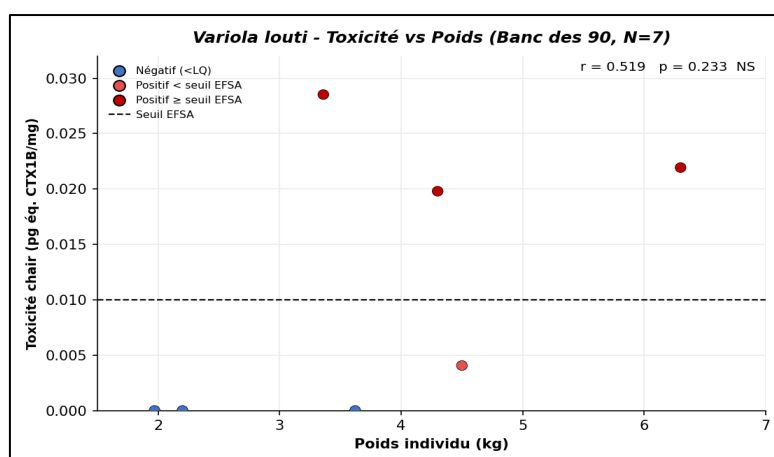


Figure 26b : Relation taille (LT cm) et poids (Kg) / toxicité (pg éq. CTX1B / mg de chair) pour Variola louti

Aprion virescens et *Variola louti* ne montrent aucune corrélation significative, comme observé à La Réunion pour VRL.

Ces résultats ont des limites de par les effectifs limités qui réduisent la puissance du test. Quand une relation existe statistiquement elle reste faible biologiquement. De plus, l'absence de significativité ne prouve pas l'absence de relation.

4.2.4. La campagne 2002-2004 (AQS-IFOP)

La campagne de pêche réalisée dans le cadre du programme AQS (ARVAM–AFSSA–ESPCI, 2002–2004) constitue la première étude de la contamination ciguatérique sur le Mont La Pérouse. Un total de 132 individus appartenant à une vingtaine d'espèces ont été collectés sur ce site.

La méthode analytique utilisée à l'époque était le bioessai sur souris (BES, résultats exprimés en unités souris, US/g de chair), seule méthode fiable et utilisée à cette période. Cette méthode présente une sensibilité inférieure au test neuroblastome N2a utilisé dans EVACIGUA. Le seuil de détection du bioessai souris étant estimé à environ 0,1 US/g, correspondant approximativement à 0,45 ng éq. CTX1B / mg d'après Lehane L. & Lewis R.J. (2000) facteur le plus cité dans la littérature de surveillance.

Tableau 18 : Résultats obtenus de la campagne de pêche AQS-IFOP (2004) sur le banc des 90. BES : bioessais souris en US/g (Unité souris par g de chair). * symptômes atypique et quantification impossible, ** conversions en équivalents P-CTX1B = 1 US/g $\approx$ 0,45 pg/mg (Lehane & Lewis, 2000).

Espèce	N analysés	N positifs BES	% positifs BES	Toxicité moy. (US/g)	Toxicité max. (US/g)	Toxicité moy. convertie (eq pg CTX1B/mg) **	Toxicité max. convertie (eq pg CTX1B/mg) **
<i>Lutjanus bohar</i>	31	27	87%	0,778	1,8	0,35	0,81
<i>Variola louti</i>	15	6	40%	0,4	0,6	0,18	0,27
<i>Caranx lugubris</i>	31	0	0%	—	—	—	—
<i>Aprion virescens</i>	16	0	0%	—	—	—	—
<i>Gymnocranus sp.</i>	8	4 *	50%	—	—	—	—
<i>Gymnocranus audleyi</i>	2	2 *	100%	—	—	—	—
<i>Seriola dumerili</i>	7	1 *	14%	—	—	—	—
<i>Sphyræna barracuda</i>	2	0	0%	—	—	—	—
<i>Caranx ignobilis</i>	3	0	0%	—	—	—	—
<i>Gymnosarda unicolor</i>	3	0	0%	—	—	—	—
<i>Lethrinus sp.</i>	3	1 *	33%	—	—	—	—
<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	2	2 *	100%	—	—	—	—
<i>Macolor niger</i>	2	0	0%	—	—	—	—
<i>Caranx melampygus</i>	2	0	0%	—	—	—	—
<i>Carangoides orthogrammus</i>	1	0	0%	—	—	—	—
<i>Pristipomoides sp.</i>	1	0	0%	—	—	—	—
<i>Naso unicornis</i>	1	0	0%	—	—	—	—
<i>Xyrichtys pavo</i>	1	1 *	100%	—	—	—	—
<i>Epinephelus sp.</i>	1	0	0%	—	—	—	—
TOTAL – Banc des 90 2004	132	44					

Des données de 2002-2004, nous pouvons noter :

Lutjanus bohar se distingue comme l'espèce la plus contaminée : 27 individus sur 31 sont positifs (87 %), dont 23 ont permis une quantification de la toxicité (moyenne 0,78 US/g, soit environ 0,35 pg éq. CTX1B / mg ; maximum 1,80 US/g $\approx$ 0,81 pg/mg) et 4 ont été classés positifs sans qu'une quantification soit possible.

Variola louti présente 7 positifs sur 15 (47 %), dont 5 quantifiés (moyenne 0,40 US/g $\approx$ 0,18 pg/mg, maximum 0,60 MU/g $\approx$ 0,27 pg/mg) et 1 positif non quantifiable.

En revanche, *Caranx lugubris* (N = 31) et *Aprion virescens* (N = 16) sont tous négatifs au bioessai souris, résultat qui contraste fortement avec les prévalences élevées observées pour ces mêmes espèces dans EVACIGUA (48 % et 62 % respectivement), et qui s'explique très probablement par la sensibilité inférieure de la méthode utilisée en 2004.

Un résultat notable est l'observation de symptômes atypiques (* dans le tableau 12) chez la souris pour plusieurs espèces de capitaines : *Gymnocranus sp.* (4 individus sur 8), *Gymnocranus audleyi* (2 sur 2), *Lethrinus rubrioperculatus* (2 sur 2), *Lethrinus sp.* (1 sur 3), mais également chez *Seriola dumerili* (1 sur 7) et *Xyrichtys pavo* (1 sur 1). Ces symptômes atypiques, différents de ceux classiquement induits par les P-CTX, suggéraient dès 2004 la présence de toxines de mode d'action distinctes.

Les deux *Sphyræna barracuda* capturés au Banc des 90 dans cette campagne sont négatifs au bioessai souris.

4.2.5. Comparaison des résultats 2002 - 2004 et EVACIGUA (2022–2025) au Banc des 90

La comparaison des résultats obtenus lors de la campagne de 2002 - 2004 (bioessai sur souris) et de ceux du programme EVACIGUA (test neuroblastome N2a CBA, 2022–2025) doit être conduite avec prudence, en raison de plusieurs différences méthodologiques importante.

Les analyses de 2004 portaient exclusivement sur la chair, sans mesure dans le foie. Avec des effectifs analysés par espèce sensiblement différent entre les deux programmes.

Le bioessai sur souris et le test neuro-2a n'ont pas la même sensibilité : le seuil de détection du bioessai souris est estimé à environ 0,1 US/g (correspondant à $\approx 0,045$ ppb éq. CTX1B selon Lehane & Lewis, 2000), alors que la limite de quantification du N2a CBA utilisé dans EVACIGUA se situe entre 0,001 et 0,002 ppb, soit environ 20 à 50 fois plus basse.

Du projet AQS-IFOP de 2002-2004, le Citeb a conservé plusieurs échantillons toxiques comme références. Ces échantillons sont utilisés régulièrement pour les mises au point méthodologiques, les essais inter-laboratoires nationaux et européens. Une comparaison méthodologique est ainsi possible (cf. tableau 19).

*Tableau 19 : Comparaison entre les résultats obtenus par bioessais souris et Neuro-2A sur 5 échantillons de la campagne de pêche AQS-IFOP (2004) sur le banc des 90. BES : bioessais souris en US/g (Unité souris par g de chair), ** conversions en équivalents P-CTX1B = 1 US/g $\approx$ 0,45 pg/mg (Lehane & Lewis, 2000).*

Réf	Espèce	Résultat souris (US/g)	Toxicité moy. convertie (eq pg CTX1B/mg) **	Toxicité N2a Citeb (eq pg CTX1B/mg)	Ratio N2a/souris	Concordance	Remarque
02/DIV/36	<i>V. louti</i>	0,4	0,180	0,208	$\times 1.16 \checkmark$	Bonne concordance	N2a légèrement supérieur (+16%). Cohérent compte tenu des incertitudes de conversion.
04/DIV/03	<i>V. louti</i>	0,4	0,180	0,106	$\times 0.59 \sim$	Écart modéré	N2a inférieur à la valeur souris convertie (–41%).
02/DIV/38	<i>L. bohar</i>	1,8	0,810	0,432	$\times 0.53 \sim$	Écart notable	N2a = 0,43 ppb vs 0,81 ppb converti (–47%). La forte valeur souris (1,8 MU/g) peu refléter la forte sensibilité des souris pour des concentration élevé de CTX ;
03/DIV/22	<i>L. bohar</i>	+	nc	0,346	nc	Comparaison impossible	Résultat 2004 = "+" uniquement (positif non quantifié). N2a permet de quantifier
03/DIV/23	<i>L. bohar</i>	0,7	0,315	0,378	$\times 1.20 \checkmark$	Bonne concordance	N2a supérieur de +20% à la valeur souris convertie.

Dans l'ensemble, la concordance observée entre les deux méthodes pour les quatre spécimens comparables est intéressante. Les toxicités observées par BES sont toutes confirmées par neuro-2A avec des concordances bonnes à modérées pour 3 échantillons sur 5. L'écart le plus notable est pour l'échantillon le plus toxique sur souris, la présence cumulée d'autres composés toxique à mode d'action différentes est possible dans ce cas. Pour l'échantillon détecté positif par BES, la quantification par N2a a été possible, confirmant la toxicité de type CTX.

La comparaison des résultats acquis des deux études séparées de 20 ans montre des cohérences notables.

La forte contamination de *Lutjanus bohar* est confirmée dans les deux études : 87 % de positifs en 2004 (23 quantifiés, moyenne 0,78 US/g $\approx$ 0,35 ppb) et 75 % dans EVACIGUA (moyenne des positifs 0,028 ppb en chair). L'écart entre les valeurs moyennes, d'un facteur 12 environ, peut s'expliquer par le fait

que les effectifs des spécimens analysés en 2004 étaient plus importants, et de la différence de sensibilité entre les méthodes.

Pour *Variola louti*, la contamination est confirmée dans les deux études avec un écart également noté entre les valeurs moyennes, d'un facteur 10 environ, pouvant s'expliquer par la différence de sensibilité entre les méthodes.

Par contre pour *Caranx lugubris* et *Aprion virescens* : entièrement négatifs au bioessai souris en 2004 (respectivement 31 et 16 individus), ces deux espèces présentent dans EVACIGUA des prévalences significatives, respectivement 48 % et 62 % de positifs en chair. Ce résultat est directement imputable à la différence de sensibilité analytique : les niveaux de contamination observés dans EVACIGUA pour ces deux espèces (moyennes des positifs entre 0,005 et 0,012 ppb) sont systématiquement inférieurs au seuil de détection du bioessai souris de 2004. Leur négativité en 2004 ne reflète donc pas une absence de contamination, mais l'invisibilité de cette contamination pour la méthode utilisée à l'époque.

Enfin, des résultats atypiques du bioessai souris avaient été notés en 2004 pour *Gymnocranius* sp., *Lethrinus rubrioperculatus*. La détection de toxicité de type CTX a été confirmée en 2025 pour les *L. rubrioperculatus*, mais pas pour les *Gymnocranius* pour lesquels une activité toxique de nature différente des CTX est possible.

4.3. Recherche des analogues des CTX par UPLC MSMS

Les premières analyses par UPLC–MS/MS de poissons du Banc des 90 ont été réalisées dans le cadre du programme CIGUATOX-RUN (Turquet et al., 2025).

Cinq spécimens du Banc des 90, *Variola louti* (02/DIV/36) et *Lutjanus bohar* (02/DIV/38, 03/DIV/21, 03/DIV/22, 03/DIV/23) ont été analysés dans leurs différents tissus (chair, foie, viscères). Le protocole appliqué combinait une double purification sur cartouches SPE Florisil et C18 avec des taux de récupération pour CTX1B compris entre 49 et 90 % selon la matrice.

CTX1B est le congénère majoritairement détecté et confirmé dans l'ensemble des deux programmes (cf. tableau 20).

Pour *V. louti* (02/DIV/36), CTX1B a été confirmé dans les trois matrices (chair, foie et viscères) avec des concentrations respectivement de 0,089, 0,089 et 0,052 ng/g. CTX2 (54-désoxy-CTX1B) et CTX3 (52-épi-54-désoxy-CTX1B) ont également été confirmés dans la chair de ce même spécimen, profil cohérent avec les données de la littérature pour *V. louti* des îles Ryukyu (Naomasa et al., 2022). Pour *L. bohar* (02/DIV/38), CTX1B a été confirmé dans la chair (0,198 ng/g) et le foie (0,191 ng/g), avec confirmation en LC-MSHR (erreur de masse exacte 2,21 ppm).

Les données sur *L. bohar* (03/DIV/21, 03/DIV/22, 03/DIV/23) sont plus complexes à interpréter. Les trois spécimens présentent une forte toxicité au N2a (0,78–1,50 ng/g en chair) mais les CTX classiques (CTX1B, CTX3C, CTX4A) ne sont pas détectées ou ne peuvent être confirmées par LC-MS/MS, suggérant la présence de congénères non couverts par les méthodes disponibles. Des signaux évocateurs d'I-CTX

ont été observés dans les viscères (03/DIV/21, 03/DIV/23) et dans la chair (03/DIV/22) mais n'ont pu être confirmés. Le fractionnement chromatographique de la chair de 03/DIV/22 n'a pas permis d'identifier de CTX connue dans les fractions toxiques, suggérant la présence possible d'un ou plusieurs congénères encore inconnus — résultat particulièrement notable au regard de la zone d'origine (Banc des 90) et cohérent avec les symptômes atypiques déjà observés au bioessai souris dès 2004 pour cette espèce.

Tableau 20 : Synthèse des résultats obtenus par UPLC-MSMS pour les espèces toxique du banc des 90.

Réf. CITEB	Espèce	Matrices analysées	Nature des composés confirmés (UPLC-MS/MS)
Programme CIGUA TOX-RUN (CITEB-IRTA, 2021–2023) – Espèces Banc des 90			
02/DIV/36	<i>Variola louti</i>	Chair, Foie, Viscères	CTX1B, CTX2, CTX3 confirmés
02/DIV/38	<i>Lutjanus bohar</i>	Chair, Foie, Viscères	CTX1B confirmé
03/DIV/21	<i>Lutjanus bohar</i>	Chair, Viscères	I-CTX détecté non confirmé
03/DIV/22	<i>Lutjanus bohar</i>	Chair	I-CTX-1/2, I-CTX-3/4* non confirmés
03/DIV/23	<i>Lutjanus bohar</i>	Chair	I-CTX possible
Programme EVACIGUA / IRTA (Rambla-Alegre & Diogène, 2025–2026) – Espèces Banc des 90			
22/109	<i>Caranx ignobilis</i>	Chair, Foie	< LQ
22/111	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair, Foie	CTX1B confirmé
22/115	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair, Foie	< LQ
22/123	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair, Foie	CTX1B confirmé (chair) ; ND (foie)
24/33	<i>Aprion virescens</i>	Chair, Foie	< LQ
24/35	<i>Aprion virescens</i>	Chair, Foie	CTX1B confirmé (foie)
24/36	<i>Aprion virescens</i>	Chair, Foie	< LQ
24/101	<i>Caranx lugubris</i>	Chair, Foie	CTX1B confirmé (foie)
22/119	<i>Cephalopholis sonnerati</i>	Chair, Foie	CTX1B confirmé (foie)

Dans le cadre du programme EVACIGUA, un sous-ensemble de neuf poissons présentant des activités CTX-positives au test N2a (18 échantillons incluant chair et foie) a fait l'objet d'une analyse approfondie des profils en ciguatoxines par chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS), réalisée par l'équipe de l'IRTA.

Les espèces analysées sont *Caranx ignobilis*, *Lethrinus rubrioperculatus*, *Aprion virescens*, *Caranx lugubris* et *Cephalopholis sonnerati*, toutes originaires du Banc des 90 et qui n'avait jamais fait l'objet de recherche par spectrométrie de masse.

L'évaluation des taux de récupération sur CTX1B dopé a montré des valeurs comprises entre 80 et 111 % selon l'espèce et la matrice, ce qui satisfait aux critères de validation définis par le guide européen SANTE/12682/2019 (70–120 %).

CTX1B est le seul congénère détecté et confirmé parmi l'ensemble des transitions surveillées, qui couvraient les familles P-CTX1B, P-CTX3C, C-CTX, I-CTX, gambierone et MTX. Ce composé a été identifié dans six des dix-huit échantillons analysés : dans la chair de *Lethrinus rubrioperculatus* (individus 22/111 et 22/123, respectivement 0,11 et 0,05 ng éq. CTX1B/g), dans le foie de *L. rubrioperculatus* (individu 22/111F, 0,20 ng/g), dans le foie d'*Aprion virescens* (individu 24/35F, 0,02 ng/g), dans le foie

de *Caranx lugubris* (individu 24/101F, 0,06 ng/g) et dans le foie de *Cephalopholis sonnerati* (individu 22/119F, 0,181 ng/g).

Aucun P-CTX de type CTX3C, ni C-CTX, ni I-CTX n'a été détecté dans ces échantillons.

CTX1B est donc le congénère prédominant identifié dans les espèces du Banc des 90 analysées dans cette étude, en cohérence avec les données publiées antérieurement par notre groupe sur les poissons de la même zone géographique (Barreiro-Crespo et al., 2025a ; Reverté et al., soumis).

La comparaison entre les résultats du N2a CBA et ceux de l'UPLC–MS/MS révèle une concordance qualitative satisfaisante — les deux méthodes identifiant le même schéma général de distribution des toxines entre tissus — mais des divergences quantitatives fréquentes. Le bioessai cellulaire tend à produire des estimations de toxicité plus élevées que l'analyse instrumentale.

Ces écarts s'expliquent par la nature fonctionnelle du test cellulaire, qui intègre l'activité de l'ensemble des congénères présents, y compris ceux dont la structure n'est pas encore élucidée et qui ne peuvent être ciblés par l'analyse instrumentale. Une comparaison plus rigoureuse nécessiterait l'application de facteurs d'équivalence toxicologique (TEF) congénère par congénère, approche qui reste limitée par la faible disponibilité de matériaux de référence certifiés pour les CTX et par l'absence de TEF expérimentaux pour la majorité des congénères connus. Tous les échantillons quantifiables dépassent le seuil de référence de 0,01 µg éq. CTX1B/kg proposé par l'EFSA pour la protection de la santé publique. Ces résultats confirment la complémentarité des deux approches analytiques et soulignent la pertinence d'associer le N2a CBA, pour sa sensibilité, à l'UPLC–MS/MS, pour la confirmation et la caractérisation structurale des toxines.

5. Synthèse et recommandations

5.1. Bilan pour le volet 1 : La Réunion

Entre janvier 2023 et mai 2026, 174 individus appartenant à six espèces ont été collectés dans les eaux côtières réunionnaises : *Variola louti* (VRL, n = 65), *Sphyræna barracuda* (GBA, n = 80), deux espèces de *Pterois* (n = 23) et deux espèces de *Lutjanus* (n = 6). L'échantillonnage a été coordonné par le CRPMEM de La Réunion avec l'appui de l'Ifremer, et couvre les quatre quadrants côtiers de l'île (zones SIH). Le secteur Sud-Ouest concentre le plus grand nombre d'individus (n = 69), le Nord-Est le moins (n = 14), ce déséquilibre reflète l'habitat et l'effort de pêche locaux.

Sur les 174 échantillons de chair analysés par le test cellulaire Neuro-2A, 43 sont positifs (24,7 %), dont 18 dépassent le seuil sanitaire EFSA de 0,01 pg éq. CTX1B/mg (10,3 %). Les limites de quantification (LQ) sont homogènes entre espèces (0,0008–0,0015 pg/mg), attestant d'une bonne reproductibilité analytique tout au long du projet.

Sur 65 chairs analysées de *Variola louti*, 21 sont positives (32 %), dont 10 dépassent le seuil EFSA (15 %). Les niveaux restent modérés en chair (moyenne des positifs : 0,015 pg/mg ; max : 0,097 pg/mg). Le foie est nettement plus contaminé : 31 foies positifs sur 63 (49 %), dont 29 au-dessus du seuil EFSA (46 %), avec une moyenne des positifs à 0,100 pg/mg et un maximum à 0,545 pg/mg. Sur les 16 paires doublement positives, le ratio foie/chair atteint une médiane de $\times 14$, pouvant dépasser $\times 75$ pour les individus les plus contaminés.

Aucune corrélation significative n'est observée entre la taille et la toxicité ($r = 0,238$, $p = 0,067$). Une corrélation faible mais significative est notée avec le poids ($r = 0,319$, $p = 0,010$), qui disparaît sur les seuls individus positifs. La taille et le poids ne constituent donc pas des prédicteurs fiables du risque individuel pour notre échantillonnage (poids > 2,5 kg). La contamination est diffuse et spatialement hétérogène, sans gradient géographique structuré à l'échelle des zones SIH.

Sur 80 chairs analysées de *Sphyræna barracuda*, 17 sont positives (21 %), dont 5 au-dessus du seuil EFSA (6 %). Les niveaux sont très hétérogènes : la distribution est dominée par un individu exceptionnel de la zone RNE3 atteignant 0,607 pg/mg en chair et 19,43 pg/mg en foie, qui est la valeur de toxicité maximale obtenue du programme EVACIGUA. Hormis cet individu, les niveaux de chair restent modérés (moyenne des positifs hors exception : 0,018 pg/mg). Le foie présente une prévalence de 38 % (30 positifs sur 78), avec 28 individus au-dessus du seuil EFSA et une moyenne de 0,818 pg/mg tirée par la valeur exceptionnelle. Le ratio foie/chair médian ($\times 26,5$) est environ le double de celui observé chez *V. louti*. Le secteur Nord-Est concentre les niveaux et prévalences les plus élevés, bien que l'effectif y soit limité.

Les 23 individus analysés de *Pterois* (*P. miles* et *P. antennata* confondues) sont entièrement négatifs en chair et présentent une absence de contamination détectable au-dessus de la LQ. Les analyses UPLC–MS/MS confirment l'absence de CTX dans ces échantillons, avec des taux de récupération satisfaisants (82–83 %). Ces résultats indiquent l'absence de risque ciguatérique significatif pour cette espèce dans les eaux réunionnaises sur la période d'étude.

Trois restes de repas de *V. louti* impliqués dans des TIAC (toxi-infection alimentaire collective) pour ciguatera avec hospitalisations à La Réunion (2015, 2023, 2026) ont été analysés par la même

méthode. Les concentrations mesurées (0,256 à 3,223 pg/mg, moyenne 1,386 pg/mg) dépassent le seuil EFSA d'un facteur 26 à 323. La valeur maximale EVACIGUA pour *V. louti* (0,097 pg/mg) reste 2,6 fois inférieure à l'échantillon le moins toxique des TIAC. Le barracuda le plus toxique pour la chair (0,607 pg/mg) dépasse la plus faible valeur obtenue pour les TIAC. Ces données suggèrent que la grande majorité des poissons positifs détectés dans le projet EVACIGUA se situent sous le seuil d'intoxication clinique sévère documenté à La Réunion, sans exclure l'existence d'individus ponctuellement très contaminés.

Un sous-ensemble de 18 échantillons de *V. louti* et *S. barracuda* a été soumis à analyse UPLC-MS/MS par l'IRTA.

Chez *V. louti*, seules des P-CTX du groupe CTX1B ont été détectées (CTX1B dominant, co-détection de CTX2 et CTX3 dans un foie), résultats en cohérence avec les travaux antérieurs obtenus du projet CIGUATOX RUN (Barreiro-Crespo et al., 2025a ; Turquet et al. 2025).

Chez *S. barracuda*, les profils sont plus diversifiés : CTX1B est présent dans deux foies, mais des I-CTX (I-CTX-1, I-CTX-2, I-CTX-4) ont été détectées dans deux spécimens, dont l'individu exceptionnel 23/107, avec des concentrations très élevées d'I-CTX-2 (4,954 µg/kg en foie) et d'I-CTX-4 (1,371 µg/kg en foie). Cette détection d'I-CTX chez *S. barracuda* à La Réunion constitue un résultat original, confirmant la coexistence des CTX dites « pacifiques » et « indiennes » dans les eaux réunionnaises.

L'analyse bibliographique portant sur cinq espèces de Balistidae ciblées au montage du projet (*B. viridescens*, *S. fraenatum*, *B. conspicillum*, *C. maculata*, *O. niger*) n'a pas permis de conclure à un risque ciguatérique avéré pour ces espèces dans l'océan Indien. Seule *C. maculata* fait l'objet d'un signalement documenté aux Caraïbes (sans confirmation analytique). Aucune de ces cinq espèces n'a été analysée en laboratoire dans le cadre d'EVACIGUA.

5.2. Bilan pour le volet 2 : Banc des 90 milles (Mont La Pérouse)

108 individus appartenant à 13 espèces ont été collectés au Banc des 90 lors de la campagne menée avec l'OSIRIS en novembre 2022 et par l'intermédiaire de deux pêcheurs professionnels. Les trois espèces les mieux représentées sont *Aprion virescens* (n = 26), *Caranx ignobilis* (n = 20) et *Caranx lugubris* (n = 27), qui ont atteint l'objectif de 20 spécimens. Les effectifs de *V. louti* (n = 7) et *L. bohar* (n = 4) sont restés limités malgré les efforts déployés.

Sur les 10 chairs analysées par le test cellulaire Neuro-2A, 58 sont positives (53,7 %), dont 29 dépassent le seuil EFSA (26,9 %). La prévalence globale est donc nettement supérieure à celle observée à La Réunion (24,7 %), confirmant le caractère à risque plus élevé de cette zone de pêche.

Les prévalences les plus élevées sont observées chez *C. ignobilis* (80 %, 16/20, dont 9 au-dessus du seuil EFSA), les *Lethrinus* spp. (100 %, 4/4, tous au-dessus du seuil EFSA) et *L. bohar* (75 %, 3/4, dont 2 au-dessus du seuil). *L. bohar* présente la valeur maximale en chair (0,054 pg/mg). *A. virescens* affiche 62 % de positifs (16/26) dont 9 au-dessus du seuil EFSA. *C. lugubris* montre 48 % de positifs mais seulement 1 dépassement EFSA, indiquant une contamination majoritairement sub-réglementaire.

Aprion virescens, *Lethrinus rubrioperculatus*, *Lethrinus olivaceus* sont actuellement autorisés à la commercialisation par l'AP 3621 de 2009.

Gymnocranus grandoculis, *Pristipomoides filamentosus* et *Gymnosarda unicolor* sont tous négatifs.

Les analyses chair/foie réalisées sur les quatre espèces les mieux représentées confirment la tendance observée à La Réunion : le foie accumule systématiquement les CTX à des niveaux supérieurs à la chair. Pour *V. louti*, 86 % des foies sont positifs contre 57 % des chairs, avec un ratio médian foie/chair de $\times 8,9$ et un maximum foie à 0,595 pg/mg. *Aprion virescens* présente un profil similaire (ratio $\times 8,0$, max foie 0,310 pg/mg). *C. ignobilis* se distingue par une prévalence chair (80 %) supérieure à celle du foie (65 %), observation originale qui pourrait suggérer une dynamique d'accumulation ou de métabolisation différente. *C. lugubris* présente le contraste le plus marqué entre les deux matrices.

Des analyses de relations toxicité vs biométrie, *C. lugubris* est la seule espèce avec deux corrélations significatives ($r = 0,518$ longueur, $r = 0,513$ poids, $p = 0,006$), ainsi les individus les plus grands et les plus lourds tendant à être plus toxiques. *C. ignobilis* présente une corrélation significative avec le poids ($r = 0,464$, $p = 0,039$) mais pas avec la longueur, probablement en raison de deux individus exceptionnellement grands (131 et 149 cm) négatifs en chair. *A. virescens* et *V. louti* ne montrent aucune corrélation significative, comme observé à La Réunion.

Le projet AQS-IFOP réalisé sur des spécimens pêchés entre 2002 et 2004, et analysé par bioessai souris sur 132 spécimens constitue la référence historique pour ce site. La forte contamination de *L. bohar* (87 % de positifs en 2004) et de *V. louti* est confirmée dans les deux études. La différence de sensibilité entre le bioessai souris (seuil $\approx 0,045$ pg/mg) et le N2a CBA (LQ $\approx 0,001$ – $0,002$ pg/mg) explique la négativité de *C. lugubris* et *A. virescens* en 2004, espèces qui présentent respectivement 48 % et 62 % de positifs dans EVACIGUA à des niveaux sub-réglementaires. Les résultats atypiques (symptômes) du bioessai souris notés en 2004 pour *Gymnocranus* sp. et *Lethrinus* spp. trouvent leur écho dans la confirmation analytique d'une toxicité de type CTX chez *L. rubrioperculatus* dans EVACIGUA.

Des analyses complémentaires ont été réalisées dans le cadre du programme CIGUATOX-RUN (Turquet et al. 2025) sur 5 spécimens de *V. louti* et *L. bohar* de la campagne 2002–2004 et dans EVACIGUA par l'IRTA sur 9 nouvelles espèces (*C. ignobilis*, *L. rubrioperculatus*, *A. virescens*, *C. lugubris*, *C. sonnerati*). CTX1B est le congénère majoritairement détecté et confirmé dans l'ensemble des deux programmes. Il est identifié dans la chair et/ou le foie de *V. louti*, *L. bohar*, *L. rubrioperculatus*, *A. virescens*, *C. lugubris* et *C. sonnerati*. CTX2 et CTX3 sont co-détectés chez *V. louti*. Aucune I-CTX ni C-CTX n'a pu être formellement confirmé dans les espèces du Banc des 90, bien que des signaux préliminaires évocateurs d'I-CTX aient été observés dans plusieurs échantillons de *L. bohar* sans confirmation définitive.

5.3. Recommandations

Actualisation réglementaire

Le programme EVACIGUA constitue la première base de données analytique significative sur la contamination ciguatérique des poissons pêchés dans les eaux côtières réunionnaises depuis plus de vingt ans. Ses résultats permettent d'alimenter une réflexion argumentée sur l'arrêté préfectoral n°3621 de 2009, actuellement en vigueur.

La Réunion

Pour *Variola louti*, les données EVACIGUA confirment la présence de ciguatoxines dans 32 % des individus pêchés d'un poids total supérieur à 2,5 kg, avec 15 % dépassant le seuil EFSA pour les chairs analysées. Cette prévalence significative, couplée à des niveaux de toxicité en foie particulièrement élevés (46 % des foies > seuil EFSA, ratio foie/chair médian $\times 14$), justifie **le maintien de l'interdiction de commercialisation pour cette espèce dans les eaux côtières réunionnaises pour les spécimens de poids supérieur à 2,5 kg**. Aucun gradient géographique clair n'ayant été identifié à l'échelle des zones du SIH, une différenciation de la réglementation par zone n'est pas fondée à ce stade.

Pour *Sphyraena barracuda*, la situation est plus nuancée. La prévalence en chair est de 21 %, avec seulement 6 % d'individus dépassant le seuil EFSA. Cependant, la présence d'un individu dont la toxicité est proche du niveau mesuré dans les restes de repas de TIAC, et dont le foie atteint 19,43 pg éq. CTX1B/mg (valeur exceptionnelle), rappelle que la distribution de la contamination est très hétérogène et que des individus très toxiques coexistent avec des individus plus faiblement contaminés dans la même zone de pêche. Cette hétérogénéité et l'impossibilité de différencier visuellement un poisson toxique d'un poisson sain plaident pour **le maintien de la vigilance réglementaire pour cette espèce**.

Pour les *Pterois spp.*, les résultats EVACIGUA indiquent une absence de contamination détectable. Ces données constituent un premier argument pour **envisager une révision de l'arrêté préfectoral pour les deux espèces** présentes dans les eaux réunionnaises, sous réserve d'analyses de confirmation sur un effectif plus large. Ce genre n'a jamais été mis en cause dans des cas d'intoxication alimentaire à La Réunion ; il est connu pour être venimeux.

Pour les espèces de *Lutjanus*, les effectifs analysés sont insuffisants ($n = 6$) pour tirer des conclusions solides sur la contamination dans les eaux côtières réunionnaises, bien que les résultats préliminaires indiquent une prévalence élevée. Ces espèces constituent une priorité pour la poursuite des acquisitions de données. *Lutjanus bohar* est déjà identifié dans la liste de l'article 2 ; *Lutjanus argentimaculatus* ne l'est pas. **Une inscription de *Lutjanus argentimaculatus* à l'article 2 est à envisager** du fait de la toxicité mesurée dans la chair des deux individus testés, dont un avec un niveau supérieur à la valeur guide de l'EFSA.

Pour les espèces de Balistidae identifiées dans EVACIGUA (*Balistoides viridescens*, *Sufflamen fraenatum*, *Balistoides conspicillum*, *Canthidermis maculata*, *Odonus niger*), l'analyse bibliographique menée met en évidence un risque pour trois espèces sur les cinq considérées (*C. maculata*, *B. viridescens* et *B. conspicillum*) sur la base de quelques cas documentés ailleurs dans le monde et sans

confirmation de la nature des toxines en présence. L'absence de cas d'intoxication avérée à La Réunion permet de conclure que le risque est faible. **Une révision de l'arrêté préfectoral pour ces espèces est à envisager, avec un plan analytique à mettre en œuvre.**

Le Banc des 90 milles (Mont La Pérouse)

Les résultats d'EVACIGUA révèlent une contamination significative chez une espèce particulière pêchée sur le Banc des 90 qui ne figure pas dans l'arrêté préfectoral n°3621 du 24/12/2009 et qui est donc actuellement autorisée à la commercialisation. *Aprion virescens* (62 % de positifs, 35 % > seuil EFSA) présente des niveaux et des prévalences comparables ou supérieurs à ceux observés chez des espèces pourtant inscrites à l'arrêté. Pour les deux espèces de *Lethrinus* (1 spécimen analysé par espèce, tous au-dessus du seuil EFSA), les effectifs analysés sont insuffisants (n = 2) pour tirer des conclusions sur la contamination au Banc des 90. Ces espèces constituent une priorité pour les programmes de surveillance à venir.

Une inscription d'*Aprion virescens* à l'article 2 est recommandée, avec dérogation pour les spécimens capturés dans les eaux territoriales de La Réunion. En effet, cette espèce est exploitée localement et n'a jamais été responsable d'intoxication alimentaire.

Mise en place et poursuite des acquisitions de données

Les données EVACIGUA représentent une photographie sur une période de trois ans. Des espèces ont été ciblées, mais les effectifs étudiés sont insuffisants pour conclure. D'autres n'ont pas été suivies, alors que le risque est avéré sur le Banc des 90, zone proche de La Réunion.

Ainsi, nous recommandons de poursuivre les acquisitions de données sur les *Pterois*, qui demeurent insuffisamment documentés, et les *Lutjanus* (*Lutjanus bohar* et *L. argentimaculatus*), que l'on peut identifier comme espèces sentinelles.

La mise en place d'une surveillance est préconisée pour *Aprion virescens*, avérée comme à risque en provenance du Banc des 90. Cette espèce est exploitée à La Réunion (1,8 t déclarées dans le SIH en 2020 ; Ross et al., 2023).

La poursuite du plan de surveillance des espèces commercialisées est également préconisée, sur la base du dispositif exploratoire qui a été mis en œuvre en 2024 par la DGAL du MAASA.

Enquêter sur les formes légères et modérées d'intoxication.

La comparaison entre les niveaux EVACIGUA et les niveaux TIAC souligne l'absence totale de données sur les intoxications légères, qui ne sont pas déclarées. La valeur seuil EFSA de 0,01 µg éq. CTX1B/kg repose sur un nombre très restreint de cas documentés avec quantification analytique des toxines dans le repas incriminé.

Les données TIAC du Citeb constituent une contribution. Les remontées d'informations systématiques sur la nature des repas et les quantités ingérées individuellement par les malades sont des données essentielles qui permettront à terme d'établir des LOAEL solides.

Étendre le réseau de surveillance au niveau régional Océan Indien.

En 2000, près d'une dizaine d'affections pathologiques avaient été identifiées dans les îles de l'océan Indien mettant en cause des biotoxines marines qui contaminent les chaînes alimentaires, parmi elles véhiculées par des requins, des tortues et des sardines (Turquet et al., 2000). Certaines ont depuis été documentées, d'autres non.

Les situations épidémiologiques par pays restent sous-documentées ; quelques initiatives existent depuis peu, comme à Madagascar où Tuléar relance son programme d'étude pour sa province, ou l'analyse de poissons par les Seychelles suite à la survenue d'intoxications en 2022. Ces données sont trop parcellaires pour une réactualisation du risque dans le bassin de l'océan Indien. De plus, les bancs des Mascareignes sont des zones de pêche partagées entre La Réunion, Maurice, les Seychelles et potentiellement d'autres États de la région, connues pour être à haut risque pour la ciguatera.

Une relance de la coopération régionale permettrait de mutualiser les données de surveillance, d'harmoniser les protocoles et de développer une cartographie du risque ciguatérique à l'échelle du bassin de l'océan Indien, objectif identifié dès 2018 dans le plan d'action Citeb mais non encore atteint.

Poursuivre la recherche et l'innovation

Le programme EVACIGUA a permis la collecte d'otolithes sur les poissons échantillonnés à La Réunion, qui restent à analyser. Cela constitue une ressource scientifique à valoriser. Il est recommandé de réaliser les lectures d'âge sur l'ensemble des spécimens disponibles afin de tester l'hypothèse d'une relation entre l'âge et la contamination par les CTX.

Les analyses UPLC-MS/MS d'EVACIGUA ont mis en évidence la coexistence de P-CTX et d'I-CTX chez *Sphyræna barracuda* et des signaux évocateurs de congénères non identifiés chez *Lutjanus bohar* au Banc des 90. Ces résultats soulignent la nécessité de poursuivre la caractérisation des profils toxiques dans l'océan Indien, en particulier par des approches de fractionnement guidé par bioessai sur des échantillons sélectionnés. La toxicité spécifique des I-CTX n'est pas établie, ce qui limitera l'adaptation des valeurs seuils de salubrité pour les espèces dont le profil toxique inclut des congénères I-CTX.

La méthode Neuro-2a, désormais validée et officialisée en France, constitue la référence analytique du programme mais présente des limites en termes de délai de réponse et de coût. Des méthodes alternatives sont actuellement en développement à l'échelle internationale : les biocapteurs électrochimiques représentent l'une des pistes les plus prometteuses, avec des temps d'analyse de l'ordre de quelques minutes et des coûts unitaires très inférieurs à ceux des méthodes actuelles. Des prototypes ont déjà été testés par le Citeb sur des échantillons d'EVACIGUA en collaboration avec l'IRTA (Reverté et al., soumis). Les méthodes immunologiques (ELISA, bandelettes) et les aptamères

anti-CTX constituent des pistes complémentaires, encore limitées par la diversité structurale des congénères. Il est recommandé que le Citeb s'inscrive activement dans ces démarches, à la fois comme site de validation de terrain et comme fournisseur d'échantillons de référence caractérisés — ressource constituée au cours d'EVACIGUA et particulièrement précieuse pour la validation de tout nouvel outil analytique dans le contexte spécifique de l'océan Indien.

6. Références bibliographique

- ANSES (2024). LSA-INS-1618 – Version 0, novembre 2024. Détermination des ciguatoxines dans la chair de poisson par test de cytotoxicité sur lignée cellulaire Neuro-2a. ANSES / LSAiments, Maisons-Alfort.
- Barreiro-Crespo L., Sanchez-Henao A., Gimeno-Monforte S., Reverte J., Campas M., Garcia-Altares, M., Tunin-Ley A., Maillot F., Flores C., Chomerat, N., Bilien, G., Tsumuraya T., Fontanals N., Borrull F., Turquet J., Diogene J., Rambla-Alegre M. (2025). Identification of *Gambierdiscus* species from La Réunion and evaluation of toxicity and toxin profile. *Harmful Algae*, 150: 103003.
- Barreiro-Crespo L., Sanchez-Henao A., Gimeno-Monforte S., Reverte J., Campas M., Tsumuraya T., Diogene J., Tunin-Ley A., Maillot F., Flores C., Fontanals N., Borrull F., Turquet J., Rambla-Alegre M. (2025). Toxicity and toxin profile of La Reunion (Indian Ocean) fish containing ctx-like compounds. *Harmful algae*, 147: 102882
- Chinain M., Gatti C.M.i., Darius H.T., Quod J.-P., Tester P.A. (2021). Ciguatera poisonings: A global review of occurrences and trends. *Harmful Algae* 102 : 101873.
- Costa P.R., EstevezP., Solino L., Castro, D., Rodrigues, S.M., Timoteo, V., Leao- Martins, J.M., Santos, C., Gouveia, N., Diogene,J., Gago-Martínez, A., 2021. An update on ciguatoxins and CTX-like toxicity in fish from different trophic levels of the Selvagens Islands (NE Atlantic, Madeira, Portugal). *Toxins*. (Basel) 13 (8), 580.
- Dammann, A.E., 1969. Study of the fisheries potential of the Virgin Islands. Special Report. Contribution No. 1. Virgin Islands Ecological Research Station.
- Davis G. & Hood P. (2003). Length-weight relationships for barracuda (*Sphyraena barracuda*) from Florida Keys. NOAA Technical Report.
- EFSA (2010). Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish – Emerging toxins: ciguatoxin group. *EFSA Journal* 8(6) : 1627.
- FDA (2013). Guidance for Industry: Purchasing Reef Fish Species Associated with the Hazard of Ciguatera Fish Poisoning. US Food and Drug Administration.
- Halstead B.W. (1978). Poisonous and venomous marine animals of the world. Darwin Press, Princeton, New Jersey.
- Halstead, B.W., P.S. Auerbach and D.R. Campbell, 1990. A colour atlas of dangerous marine animals. Wolfe Medical Publications Ltd, W.S. Cowell Ltd, Ipswich, England. 192 p
- Hamilton, B., Hurbungs, M., Vernoux, J.-P., Jones, A., Lewis, R.J. (2002a). Isolation and characterisation of Indian Ocean ciguatoxin. *Toxicon* 40, 685-693.
- Hamilton, B., Hurbungs, M., Jones, A. & Lewis, R.J. (2002b). Multiple ciguatoxins present in Indian Ocean reef fish. *Toxicon*, 40(9), 1347–1353.
- Ifremer Délégation Océan Indien (2023). Restitution de projet. Accobiom. ACquisition de CONnaissances sur les paramètres Biologiques des ressources marines exploitées en Outre-Mer. La Réunion. Ifremer. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00843/95449/>
- Lehane L. & Lewis R.J. (2000). Ciguatera: recent advances but the risk remains. *International Journal of Food Microbiology* 61(2-3) : 91–125.
- Lenoir S. (2006). Complexes neurotoxiques impliqués dans la contamination des produits de la mer de l’Océan Indien : caractérisation toxinique et contribution des toxines de *Gambierdiscus toxicus* et *Ostreopsis marseillensis*. Thèse de doctorat, Muséum national d’Histoire Natuelle, spécialité ecotoxicologie marine, 320 pp+annexes.

- Loeffler, C.R., Robertson, A., Flores Quintana, H.A., Silander, M.C., Smith, T.B. & Olsen, D. (2018). Ciguatera prevalence in 4 commercial fish species along an oceanic exposure gradient in the US Virgin Islands. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(7), 1852–1863. <https://doi.org/10.1002/etc.4137>
- Mattei C., Vetter I., Eisenblätter A., Krock B., Ebbecke M., Desel H., Zimmermann K. (2014). Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries. *Toxicon* 91 : 76–83.
- Murata M. & Yasumoto T. (2019). Purification of ciguatoxins from carnivorous fish. In : *Seafood and freshwater toxins*. CRC Press, 3e éd.
- Myers, R.F., 1991. Micronesian reef fishes. Second Ed. Coral Graphics, Barrigada, Guam. 298 p.
- Naomasa O., Yogi K., Oshiro N. et al. (2022). CTX profiles in *Variola louti* from the Ryukyu Islands. *Toxins* 14 : 482.
- Pottier I., Vernoux J.-P., Lewis R.J. (2001). Ciguatera fish poisoning in the Caribbean islands and Western Atlantic. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 168 : 99–141.
- Pottier, I., Lewis, R.J. & Vernoux, J.-P. (2023). Ciguatera Fish Poisoning in the Caribbean Sea and Atlantic Ocean: Reconciling the Multiplicity of Ciguatoxins and Analytical Chemistry Approach for Public Health Safety. *Toxins*, 15(7), 453.
- Quod J.-P. & Turquet J. (1996). Ciguatera in Reunion Island (SW Indian Ocean): epidemiology and clinical patterns. *Toxicon* 34(7) : 779–785.
- Ragelis E.P. (1984), The continuing enigma of ciguatera, *Biological Bulletin*, 172, 89–107
- Reverté J., Shivangi Shukla S., Tsumuraya T., Hiram M., Turquet J., Diogène J., Campàs M. (2025) Analysis of ciguatoxins in fish with a single-step sandwich immunoassay. *Harmful algae*, 146
- Reverté J., Turquet J., Maillot F., Cervera-Piñana J.J., Rambla-Alegre M., Díaz-Avello U.G., Skouridou V., O’Sullivan C.K., Tsumuraya T., Hiram M., Alcaraz C., Diogène J., Campàs M. (soumis). Ciguatoxin Occurrence in Two Predatory Fish Species from La Réunion Island (South-Western Indian Ocean): Appraisal of Analytical Tools for Ciguatera Control, soumis a *Food Control*.
- Roos D., Taconet J., Gentil Claire, Sancelme T., Brisset B., Evano H., Lepetit C., Boymond-Morales R., Nithard A., Biseau A., Pelletier D., Mahe K. (2023). Projet IPERDMX : Bioécologie et état des principales ressources démersales exploitées à La Réunion. Ref. Synthèse finale. RBE/DOI/2023-001. Ifremer. <https://doi.org/10.13155/93482>
- Solino L., Costa P.R. (2020). Global impact of ciguatoxins and ciguatera fish poisoning on fish, fisheries and consumers. *Environ. Res.* 182, 109111.
- Tudò A., Toldrà A., Andree K.B., Murray S., Fernández-Tejedor M., Campàs M., Diogène J. (2022). Optimised extraction protocol for ciguatoxin determination in fish by UPLC-MS/MS. *Food Chemistry* 375 : 131832.
- Turquet J., Quod J.P., Pannetier S., Ramialiharisoa A., Ranaivoson G., Hurbungs M., Jeannoda V. (2000). Manuel méthodologique. Suivi et prévention des intoxications par consommation d’animaux marins dans le sud-ouest de l’océan Indien. Réalisé par ARVAM pour le compte de Commission de l’Océan Indien, ISBN 99903-71-01-6, 50 pp.
- Turquet J., Maillot F., Tunin-Ley A., Barreiro-Crespo L., Reverte J., Campas M., Chomerat, N., Bilien, G., diogène J. (2025). Rapport final projet CIGUATOX-RUN : Ciguatoxines de La Réunion. Rapport Citeb pour le compte du Feder/Région Réunion. Convention : N°GURDTI/20210304-0029605, 43pp. CIGUATOXRUN est cofinancé par l’Europe et la Région Réunion. Ce projet a été financé au titre du FEDER 2014-2020.

ANNEXES

- L'AP 3621 de 2009
- Rapport final de l'IRTA



Liberté • Égalité • Fraternité

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

PREFECTURE DE LA REUNION

SECRETARIAT GENERAL

Saint-Denis le

**DIRECTION DES RELATIONS AVEC
LES COLLECTIVITES
TERRITORIALES ET LE CADRE DE
VIE**

ARRETE N° 3621 /2009/SG/DRCTCV

Enregistré le

24 DEC 2009

Réglementant la commercialisation de certaines espèces de poissons marins tropicaux

LE PREFET DE LA REGION ET DU DEPARTEMENT DE LA REUNION

Officier de la Légion d'Honneur

Chevalier de l'Ordre National du Mérite

Vu les Rèlements 178-2008, 852-2004, 853-2004, 854-2004, fixant notamment les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche ;

Vu la directive 97/78/CEE du conseil du 18 décembre 1997 fixant les principes relatifs à l'organisation des contrôles vétérinaires pour les produits en provenance des pays tiers introduits dans la communauté ;

Vu le code de la consommation et notamment son Art. L 212.1 ;

Vu le code rural, et notamment ses articles R231-12 à 19,

Vu l'arrêté ministériel du 16 mars 1982 (ministres de la consommation, de l'agriculture, de la mer), définissant les noms français officiels et dénominations admises des poissons marins ;

Vu l'arrêté ministériel du 25 juillet 1986 (ministres de l'agriculture, de l'économie et des finances, secrétaire d'Etat à la mer), relatif à la réglementation des conditions d'importation en France des produits de la mer et eau douce destinés à la consommation humaine ;

Vu l'arrêté préfectoral N° 06-2412/SG/DRCTCV du 30 juin 2006 réglementant la commercialisation de certaines espèces de poissons marins tropicaux ;

Vu le relevé de décision de la réunion du 3 novembre 2009 qui s'est tenue en présence du Directeur de la Direction des services vétérinaires, du Directeur régional des affaires maritimes, du Président du comité régional des pêches maritimes et de l'Agence pour la recherche et la valorisation marine ;

Considérant la situation de la Région REUNION dans la zone Océan Indien où sévit le phénomène « ciguatera » de façon endémique ;

Considérant la nécessité de protéger au mieux la population réunionnaise contre ce risque, au vu de ses habitudes alimentaires et d'une affinité particulière pour ces types de poissons à risque Ciguatérique ;

Considérant qu'il y a lieu d'appliquer une réglementation sanitaire uniforme entre les poissons issus de la pêche locale et les poissons issus de la pêche en pays tiers ;

ARRETE :

Article 1

Sans préjudice de l'application des autres dispositions réglementaires visées dans les textes de référence,

1.1 Sont interdits à la commercialisation sur le territoire du département de la REUNION :

1.1.1 Les poissons vénéneux des familles suivantes : Tétrodontidae, Molidae, Diodontidae, Cantigasteridae, Balistidae, Acanthuridae.

1.1.2 Les produits de la mer contenant des biotoxines telles que ciguatoxine ou toxines paralysantes des muscles.

1.2 Tout responsable de la première mise sur le marché de poisson est tenu de vérifier que ses produits répondent aux prescriptions du point 1.1 précité.

Article 2

Pour l'application du point 1.1.2. de l'article 1^{er} et au vu des connaissances actuelles notamment dans la zone de l'Océan Indien, la commercialisation des espèces suivantes en provenance de zones de pêche tropicales est interdite :

ESPECES DE POISSONS INTERDITES				
Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
ACANTHURIDAE	<i>genus (1)</i>	<i>spp (2)</i>	poisson chirurgien	poisson chirurgien
BALISTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	baliste	bourse
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>ignobilis</i>	carangue grosse tête	carangue grosse tête
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>lugubris</i>	carangue	carangue noire
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>melampygus</i>	carangue aile bleue	carangue bleue
CARANGIDAE	<i>Carangoides</i>	<i>fulvoguttatus</i>	carangue amoureuse	carangue blanc
CARCHARINIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requins gris, baleinier, tigre	requins gris, baleinier, tigre
CLUPEIDAE	<i>Herklotsichthys</i>	<i>quadrimaculatus</i>	hareng queue blanche	sardine queue blanche
CLUPEIDAE	<i>Amblygaster</i>	<i>sirm</i>	sardinelle tachetée	sardinelle tachetée
DIODONTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	poisson porc épïc	poisson porc-épïc
HEXANCHIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requin grisët	requin grisët
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>griseus</i>	empereur gris	capitaine pisa
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>grandoculis</i>	empereur tatoué	capitaine blanc
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>gibbus</i>	lutjan bossu	vivanneau pagale
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>sebae</i>	bourgeois	bourgeois
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>bohar</i>	vara vara	vara vara
SCOMBRIDAE	<i>Gymnosarda</i>	<i>unicolor</i>	thon dents de chien	thon dents de chien
SCORPAENIDAE	<i>Pterois et Synancea</i>	<i>spp</i>	poisson scorpion	poisson scorpion
SERRANIDAE	<i>Cephalopholis</i>	<i>argus</i>	vielle cuisinier	prude

SERRANIDAE	<i>Variola</i>	<i>louti</i>	croissant queue jaune	grand queue
SERRANIDAE	<i>Plectropomus</i>	<i>maculatus</i>	babonne	babonne
SPHYRAENIDAE	<i>Sphyraena</i>	<i>barracuda</i>	barracuda	békine à dents
SPHYRNIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	requin marteau	requin marteau
TETRAODONTIDAE	<i>genus</i>	<i>spp</i>	tétodon	poisson ballon

- (1) *genus* : tous les genres de la famille
- (2) *spp* : toutes les espèces du genre

Article 3

En dérogation à l'article 2 sont autorisées les espèces suivantes :

Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
CARCHARINIDAE	<i>Prionace</i>	<i>glauca</i>	requin à peau bleue	requin à peau bleue
CARCHARINIDAE	<i>Carcharinus</i>	<i>longimanus</i>	requin pélagique	pointe blanche du large
SPHYRNIDAE	<i>Isurus</i>	<i>oxyrinchus</i>	requin maquereau	mako

Article 4

En dérogation à l'article 2 et en considérant la situation particulière de la REUNION par rapport au risque ciguatérique, les espèces suivantes pourront continuer à être commercialisées sous la responsabilité de leur détenteur lorsqu'elles auront été capturées dans les eaux territoriales réunionnaises.

Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>lugubris</i>	carangue	carangue noire
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>ignobilis</i>	carangue	carangue grosse tête
CARANGIDAE	<i>Caranx</i>	<i>melampygus</i>	carangue aile bleue	carangue bleue
CARANGIDAE	<i>Carangoides</i>	<i>fulvoguttatus</i>	carangue amoureuse	carangue blanc'
CARCHARINIDAE	<i>Carcharinus</i>	<i>falciformis</i>	requin à peau soyeuse	requin à peau soyeuse
CLUPEIDAE	<i>Amblygaster</i>	<i>sirm</i>	sardinelle tachetée	sardinelle tachetée
CLUPEIDAE	<i>Herklotsichthys</i>	<i>quadrimaculatus</i>	hareng queue blanche	sardine queue blanche
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>griseus</i>	empereur gris	capitaine pisa
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>grandoculis</i>	empereur tatoué	capitaine blanc
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>gibbus</i>	lutjan bossu	vivanneau pagaie
SCOMBRIDAE	<i>Gymnosarda</i>	<i>unicolor</i>	thon dents de chien	thon dents de chien
SERRANIDAE	<i>Cephalopholis</i>	<i>argus</i>	vielle cuisinier	prude
SERRANIDAE	<i>Variola</i>	<i>louti</i>	croissant queue jaune	grand queue * entier < 2,5kg

Article 5

Dans le cadre des dispositions juridiques relatives à l'obligation générale de sécurité du fait des produits défectueux :

- Les pêcheurs professionnels, les entreprises de pêche, de transformation ou de commercialisation concernées par les dérogations visées aux articles 3 et 4, devront s'assurer par des analyses régulières que ces espèces ne contiennent pas de biotoxines.
- Ils seront tenus de fournir un état annuel des résultats, d'informer immédiatement les services de l'Etat concernés en cas de résultat positif et de procéder sans délais au retrait de la commercialisation des poissons concernés.

Article 6

L'importation et l'introduction en vue de leur commercialisation sur le territoire de la Réunion d'espèces de poissons de l'Océan Indien non mentionnées par l'arrêté ministériel du 16 mars 1982 ou les avis aux importateurs parus au Journal Officiel de la République Française devra faire l'objet d'une autorisation préalable.

L'autorisation pourra être sollicitée sur présentation d'un dossier d'expertise préalable réalisé à la charge de l'opérateur par le Laboratoire ARVAM.

Au titre de l'alinéa précédent, font l'objet d'une dérogation les espèces suivantes :

Famille	Genre	Espèce	Nom commun	Nom local	Origine
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>sebae</i>	bourgeois	bourgeois	Seychelles
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>sebae</i>	bourgeois	bourgeois	Seychelles
LUTJANIDAE	<i>Lutjanus</i>	<i>sebae</i>	bourgeois	bourgeois	Madagascar (1)
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>griseus</i>	Empereur gris	Capitaine pisa	Madagascar (1)
LETHRINIDAE	<i>Gymnocranius</i>	<i>grandoculis</i>	Empereur tatoué	Capitaine blanc	Madagascar (1)

(1) Zones côtières des provinces de Diego-Suarez et Tamatave comme figurant sur la carte ci-jointe

Article 7

La commercialisation des espèces dérogatoires, visées aux articles 3, 4 et 6, n'est autorisée que pour des entreprises régulièrement déclarées qui répondent aux exigences du règlement 852-2004 ou 853-2004. Elle peut être soumise à prélèvement libératoire, à charge de l'importateur, pour ce qui est des poissons en provenance de zones de pêche hors COI.

Ces entreprises devront tenir à la disposition des services de contrôle tous les documents permettant de justifier de l'origine des produits et procéder le cas échéant et dans les meilleurs délais, au retrait de la commercialisation des produits non conformes.

Article 8

Les listes des espèces de poissons interdits ou soumis à dérogation pourront être modifiées en fonction de l'évolution des données épidémiologiques et toxicologiques.

Article 9

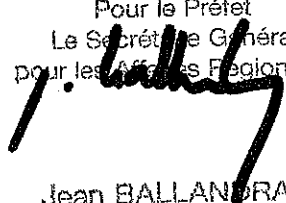
L'arrêté préfectoral N° 06-2412/SG/DRCTCV du 30 juin 2006 réglementant la commercialisation de certaines espèces de poissons marins tropicaux est abrogé.

Article 10

Le Secrétaire Général de la Préfecture, le Secrétaire Général pour les Affaires Economiques et Régionales, les Sous Préfets, les Maires des communes du département, le Directeur des Services Vétérinaires, le Directeur Régional des Affaires Maritimes, le Directeur Départemental de la Concurrence de la Consommation et de la Répression des Fraudes, le Directeur Régional de l'Action Sanitaire et Sociale, le Directeur Régional des Douanes, le Directeur Départemental de la Sécurité Publique, le Colonel Commandant le Groupement de Gendarmerie à La Réunion, sont chargés chacun en ce qui le concerne de l'exécution du présent arrêté qui sera publié au recueil des actes administratifs de la Préfecture.

Le Préfet,

Pour le Préfet
Le Secrétaire Général
pour les Affaires Régionales


Jean BALLANDRAS

REPORT: Final Report

COMPANY: CITEB



TITLE: **Toxin profile evaluation on several species of fish from La Réunion by LC-MS/MS after SPE**

PERIOD: 01/09/2025-01/05/2026

Maria Rambla Alegre and Jorge Diogène Fadini



Institute
of Agrifood Research
and Technology



Institute for Food and Agricultural Research and Technology

Carretera del Poblenou km 5,5
43540 Sant Carles de la Ràpita
Tel. +34 977 74 54 27
www.irta.cat
irta@irta.cat, www.irta.cat

Toxin profile evaluation on several species of fish from La Réunion by LC-MS/MS after SPE

ACTIVITY PRELIMINAR REPORT

Version: 1

Date: 1 / June/ 2026

RESEARCH ACTIVITY CARRIED OUT WITH:

CITEB
62, Bd du Chaudron - BP 60030
97491 Sainte Clotilde Cedex
La Réunion - France
+(262) 2 62 93 88 10)
Email: Jean.turquet@citeb.re

Contact person: Maria Rambla Alegre (maria.rambla@irta.cat) and Jorge Diogène Fadini (jorge.diogene@irta.cat).

This report is confidential and the reproduction or diffusion of the contents and data of this document to non-contracting third parties, without the express authorization of IRTA, except otherwise agreed by the parties granting the contract of which this is subject.

IRTA

This work was carried out within the framework of the EVACIGUA project which received the support of Europe and the Regional Council

CITEB

Index

Objective and scope	4
1. Extraction of fish, clean-up and analyses of fish samples	5
1.1. Toxin Extraction	6
1.2. Clean-up protocol	6
1.3. Ultra Performance Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry	7
1.4. Matrix effect evaluation	8
2. Results and discussion	9
2.1. Matrix effect evaluation	9
2.2. Analyses of naturally contaminated samples by LC-MS/MS	9
4. Bibliography	13
Supplementary Materials	14

Objective and scope

The work carried out by IRTA consists of two parts

- Purification and clean-up of fish samples including species such as *Caranx ignobilis*, *Lethrinus rubrioperculatus* and others.
- Evaluation of 18 fish extracts by Liquid chromatography coupled to mass spectrometry in tandem (LC-MS/MS)

Optimization will be conducted for nine fish (18 samples as follows):

- 9 samples of flesh
- 9 livers

1. Extraction of fish, clean-up and analyses of fish samples

Extraction protocols from nine fish containing CTX-like compounds (18 samples including different tissues such as flesh and liver) were tested for the evaluation of the toxin profile of ciguatoxins (CTXs) by LC-MS/MS. Samples are from several species of fish from la Réunion Island including *Caranx ignobilis*, *Lethrinus rubrioperculatus*, *Aprion virescens*, *Caranx lugubris*, and *Cephalopholis sonnerati*. Table 1 summarises all fish and tissues.

Table 1. Summary of samples including code

Réf CITEB	Réf	Date de réception	Origine	Espèce	Longueur totale (cm)	Poids individu (kg)	Poids Foie (g)	Matrice
22/109	D077-B90-001	31/10/2022	Banc des 90	<i>Caranx ignobilis</i>	149	43		Chair
22/109F	D077-B90-001	31/10/2022	Banc des 90	<i>Caranx ignobilis</i>	149	43		Foie
22/111	D077-B90-003	31/10/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	42	1,07		Chair
22/111F	D077-B90-003	31/10/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	42	1,07		Foie
22/115	D077-B90-007	31/10/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	41	0,97		Chair
22/115F	D077-B90-007	31/10/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	41	0,97		Foie
22/123	D077-B90-015	1/11/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	42	1,05		Chair
22/123F	D077-B90-015	1/11/2022	Banc des 90	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	42	1,05		Foie
24/33	D077-B90-044	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	79,9	5,6	52,98	Chair
24/33F	D077-B90-044	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	79,9	5,6	52,98	Foie
24/35	D077-B90-046	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	83,4	6,2	48,04	Chair
24/35F	D077-B90-046	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	83,4	6,2	48,04	Foie
24/36	D077-B90-047	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	86,7	6	44,01	Chair
24/36F	D077-B90-047	22/1/2024	Banc des 90	<i>Aprion virescens</i>	86,7	6	44,01	Foie
24/101	D077-B90-062	7/8/2024	Banc des 90	<i>Caranx lugubris</i>	97,5	12	66,2	Chair
24/101F	D077-B90-062	7/8/2024	Banc des 90	<i>Caranx lugubris</i>	97,5	12	66,2	Foie
22/119	D077-B90-011	1/11/2022	Banc des 90	<i>Cephalopholis sonnerati</i>	57,0	3,70		Chair
22/119F	D077-B90-011	1/11/2022	Banc des 90	<i>Cephalopholis sonnerati</i>	57,0	3,70		Foie

1.1. Toxin Extraction

The analyses were carried out on a minimum of 10 g of each tissue from each fish. An optimized extraction protocol was used in this step in order to obtain the maximum recovery of CTX analogues based on the publication Tudò et al. 2022. Extraction was carried out at CITEB's laboratories. Briefly, 10 ± 0.1 g of fish tissue was weighed in 50-mL tubes. The sample was heated in a water bath at 70 °C for 10 min. Then, an acetone homogenization (20 mL) was carried out for 2 min using an Ultra-Turrax blender at full speed. The homogenate was centrifuged at $3,000 \times g$ for 10 min at room temperature (25 °C) and the supernatant was collected and passed through a 0.22- μ m PTFE filter (Whatman). The pellet was subjected to a second extraction with additional 20 mL of acetone but omitting the heating step. Both supernatants were combined and evaporated to dryness in a Syncore[®] Polyvap evaporator (Büchi R-200, Flawil, Switzerland) at 50 °C. The residue was adjusted with Milli-Q water to 4 mL and diethyl ether was added, mixed by vortex, to initiate a water:diethyl ether partition (1:4, v/v) and kept at room temperature for 24 h. Afterwards, the diethyl ether phase was recovered and dried overnight. The dried extract was resuspended in 5 mL of methanol:water (8:2, v/v). The extract was partitioned three times with n-hexane (1:2, v/v); the hexane phases were discarded, and the aqueous methanol phase were dried with the evaporator at 50 °C and finally resuspended in 4 mL of methanol. Final extracts, containing 10 g tissue equivalent (TE) mL⁻¹, were stored at -20 °C until analysis.

1.2. Clean-up protocol

A clean-up step was used in order to eliminate as much interferences as possible and reduce the matrix effects that may disturb LC-MS/MS analysis. Clean-up were carried out at IRTA's laboratories. For UPLC–MS/MS analysis, all samples were passed through a solid phase extraction (SPE) Florisil cartridge prior to analysis to reduce potential matrix interferences following the protocol described by Murata and Yasumoto, 2019. Briefly, the dried extract was reconstituted with 2 mL of N-hexane-acetone (4:1, v/v)

and loaded to a normal phase SPE Florisil cartridge (J.T.Baker® 500 mg/3 mL), previously conditioned with 3 mL of N-hexane-acetone (4:1, v/v), sample was washed with 3 mL of N-hexane-acetone (4:1, v/v) at a flow of 0.6 mL/min, and collected as F1. Afterwards, toxins were eluted with 3 mL of Acetone-MeOH (9:1, v/v) at a flow of 1 mL/min. Then, the eluted fraction was identified as F2. Both fractions (F1 and F2) were dried under N₂ stream and reconstituted in 500 µL of MeOH.



Figure 1. Photo of SPE of the samples

1.3. Ultra Performance Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry

An UPLC–MS/MS method, based on the protocol proposed by Murray et al. (2024) with some modifications, was employed for the analysis of the fish samples. The setup included a Xevo TQ-XS from Waters Corporation (Milford, MA, USA) coupled to an Acquity UPLC I-Plus-Class also from Waters Corporation. Instrument control, data acquisition, and analysis were performed with the software MassLynx V4.2 and TargetLynx XS from Waters Corporation (Milford, MA, USA). Briefly, the chromatographical separation was performed on a reverse-phase BEH phenyl column (2.1 × 50 mm, 1.7 µm) from Waters Corporation (Milford, MA, USA) at 40 °C. A binary gradient elution was applied using mobile phase A (H₂O containing 0.2 % (v/v) ammonium hydroxide) and mobile phase B (95 % (v/v) acetonitrile containing 0.2 % (v/v) ammonium hydroxide). The injection volume was 2 µL and the gradient elution flow rate was set at 0.55 mL min⁻¹. Five different mass spectrometry methods with different transitions were used for CTX identification and confirmatory purposes in order to cover

the main congeners of CTX1B-type and CTX3C-type, C-CTX-group and I-CTX-group, gambierone-group, gambierol and acid gambieric-group and MTX-group, based on those described in Barreiro-Crespo et al. (2025a) and Barreiro-Crespo et al. (2025b)(supplementary materials). The source of the mass spectrometer utilized was an ESI in positive and negative ion mode, with a source temperature of 150 °C, a desolvation temperature of 600 °C, N₂ gas flow for desolvation at 1000 L h⁻¹, cone gas flow at 300 L h⁻¹, and nebulizer gas flow at 7 bar. The collision cell was operated with 0.15 mL min⁻¹ Ar. Samples were analysed in duplicate. The LOQ for UPLC–MS/MS was defined as the lowest concentration detected with accuracy and precision.



Figure 2. Xevo TQXS (LC-MS/MS equipment)

1.4. Matrix effect evaluation

For matrix effect assessment (EQ1) an aliquot of 1 mL of extract was spiked with CTX1B for a final concentration of 1 ng/mL. Then, an aliquot of 3.5 mL was prepared and evaporated to dryness under N₂ current to be resuspended in each SPE charge solvent.

$$\text{(EQ1) Recovery} = \frac{\text{STD concentration measured}}{\text{STD concentration spiked}} \times 100\%$$

“STD concentration spiked” corresponded to the theoretical concentration in the final extract of each spiked sample before SPE (1 ng/mL), assuming recovery of 100% and no matrix effects during LC-MS/MS analysis. The mean of the individual recovery was used for this evaluation.

2. Results and discussion

2.1. Matrix effect evaluation

The protocol followed by Murata and Yasumoto (2019), CTX1B recovery reached from 80-110% of the spiked analogue for the different fish species. All results are summarised in Table 2. According to the guidance document SANTE/12682/2019 (Document N° SANTE/12682/2019), recovery rates should range between 70 % and 120 %, which makes our results acceptable for the following analyses.

Table 2. Summary of matrix effect (%) assessment for different fish species and tissue

Species	Matrix	Recovery (%)
<i>Aprion</i>	Chair	93,81
<i>Aprion</i>	Foie	96,84
<i>Caranx</i>	Chair	110,55
<i>Caranx</i>	Foie	104,40
<i>Lethrinus</i>	Chair	80,43
<i>Lethrinus</i>	Foie	104,58
<i>Pterois</i>	Chair	82,13
<i>Pterois</i>	Foie	83,08

2.2. Analyses of naturally contaminated samples by LC-MS/MS

All 16 samples, including flesh and liver tissues, were analysed by UPLC-MS/MS to characterise the CTX profiles of the five fish species investigated in this study including *Caranx ignobilis*, *Lethrinus rubrioperculatus*, *Aprion virescens*, *Caranx lugubris*, and *Cephalopholis sonnerati*. All results are summarized in Table 3.

CTX1B was detected and confirmed in six samples (22/111, 22/111F, 22/123, 24/35F, 24/101F, 22/119F). No other P-CTXs, C-CTX and I-CTXs compounds were detected in any of the analysed samples. CTX1B was predominantly detected in the liver tissue, confirming the presence of these toxins. CTX1B was detected in four of the six species studied including *Lethrinus rubrioperculatus*, *Aprion virescens*, and *Caranx lugubris*.

These results are aligned with previous observations of our group in fishes from the same geographical area (Barreiro-Crespo et al., 2025a; Reverté et al., 2026).

Table 3. Summary of Neuro-2a CBA and LC-MS/MS analyses

Réf CITEB	Réf	Species	Matrix	N2a CBA (eq. ng CTX1B / g matrix)	LQ (eq. ng CTX1B / ng matrix)	LC-MS/MS (eq. ng CTX1B / g matrix)
22/109	D077-B90-001	<i>Caranx ignobilis</i>	Chair	0,0395	0,0021	< LOQ
22/109F	D077-B90-001	<i>Caranx ignobilis</i>	Foie	0,1981	0,0118	< LOQ
22/111	D077-B90-003	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair	0,1317	0,003	0,11
22/111F	D077-B90-003	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Foie	0,6088	0,0239	0,20
22/115	D077-B90-007	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair	0,0755	0,003	< LOQ
22/115F	D077-B90-007	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Foie	0,3026	0,0198	< LOQ
22/123	D077-B90-015	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Chair	0,094	0,005	0,05
22/123F	D077-B90-015	<i>Lethrinus rubrioperculatus</i>	Foie	ND	0,1584	< LOQ
24/33	D077-B90-044	<i>Aprion virescens</i>	Chair	0,0439	0,0019	< LOQ
24/33F	D077-B90-044	<i>Aprion virescens</i>	Foie	0,6482	0,0337	< LOQ
24/35	D077-B90-046	<i>Aprion virescens</i>	Chair	0,0411	0,002	< LOQ
24/35F	D077-B90-046	<i>Aprion virescens</i>	Foie	0,5462	0,0337	0,02
24/36	D077-B90-047	<i>Aprion virescens</i>	Chair	0,1081	0,004	< LOQ
24/36F	D077-B90-047	<i>Aprion virescens</i>	Foie	0,2907	0,0337	< LOQ
24/101	D077-B90-062	<i>Caranx lugubris</i>	Chair	0,0827	0,0061	< LOQ
24/101F	D077-B90-062	<i>Caranx lugubris</i>	Foie	0,5617	0,0489	0,06
22/119	D077-B90-011	<i>Cephalopholis sonnerati</i>	Chair	0,0149	0,0025	< LOQ
22/119F	D077-B90-011	<i>Cephalopholis sonnerati</i>	Foie	0,2412	0,0198	0,181

LOQ (UPLC–MS/MS) = 0.012 µg CTX1B equiv. kg⁻¹

Ciguatoxin-like toxicity was detected in most samples by Neuro-2a CBA, with concentrations ranging from non-detected levels to 0.6482 ng CTX1B equivalents/g. In general, liver samples exhibited substantially higher toxin concentrations than the corresponding flesh samples, particularly in *Aprion virescens*, *Caranx lugubris* and *Lethrinus rubrioperculatus*, suggesting a preferential accumulation of ciguatoxins in hepatic tissues. By contrast, LC-MS/MS analysis detected and quantified ciguatoxins in only a limited number of samples, while most remained below the limit of quantification (LOQ) which is consistent with previous reported data as LC-MS/MS is less sensitive than Neuro-2a CBA. Importantly, all samples that yielded quantifiable signals exceed the

guidance level of 0.01 ug CTX1B equiv/g proposed by the World Health Organization (WHO) for the protection of public health.

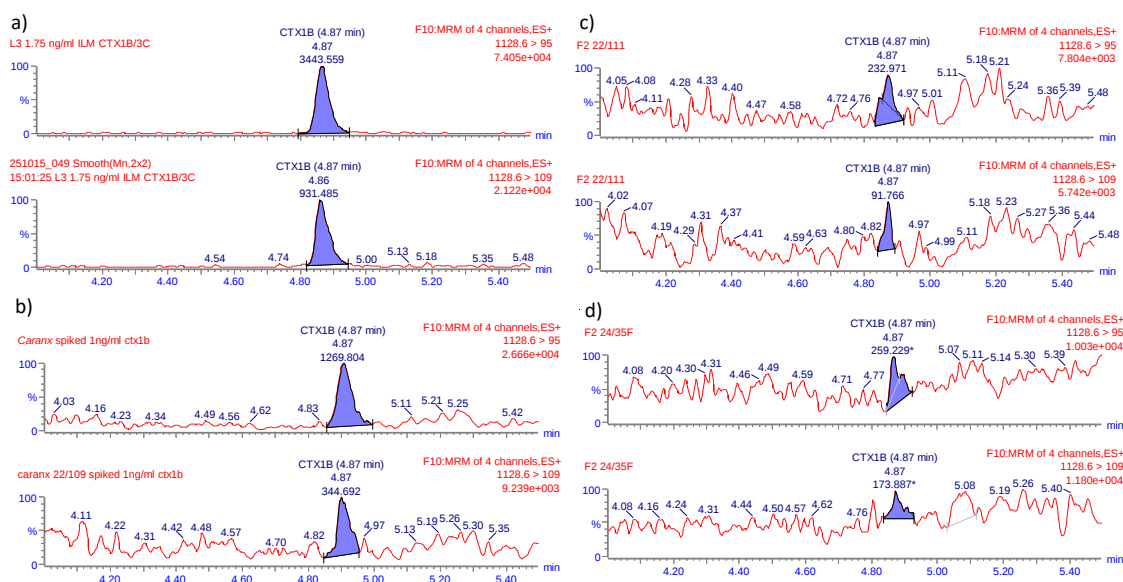


Figure 1. MRM chromatogram of transitions monitored of CTX1B, a) ILM standard at 1.75 ng/mL, b) spiked *Cranx* sp. at 1 ng CTX1B/mL, c) flesh sample 22/111 and d) liver sample 24/35F analysed by LC-MS/MS after SPE clean-up. MRM1: 1128,6>95 for quantification and MRM2: m/z 1128.6>109 for confirmation.

A general agreement was observed between the N2a CBA and LC–MS/MS results, as both methods identified the same overall pattern of toxin distribution among samples. However, quantitative differences were frequently noted, with the bioassay often yielding higher toxicity estimates than the instrumental analysis. For example, in *L. rubrioperculatus* liver sample, 22/111F, the Neuro-2a CBA measured 0.6088 ng CTX1B equiv./g whereas LC-MS/MS quantified only 0.20 ng CTX1B equiv./g. Such discrepancies may be attributed to the broader biological response measured by the cell-based assay, which can integrate the effects of multiple CTX analogues with different toxic potencies. In principle, a more accurate comparison between both approaches could be achieved by applying congener-specific toxicity equivalency factors (TEFs) to the LC–MS/MS data. Similar strategies have successfully improved the correlation between bioassay and chemical analysis results for other marine biotoxin groups. However, the implementation of this approach for ciguatoxins remains limited by the scarce availability of certified reference materials and the insufficient toxicological

characterization of many CTX congeners, including the lack of experimentally established TEFs.

Overall, the results highlight the complementary nature of both analytical approaches and support the use of Neuro-2a CBA as a sensitive tool for assessing CTX-related toxicity in fish tissues in combination with LC-MS/MS for the robust confirmation of the presence of ciguatoxin-like compounds.

3. Conclusions

Accurate characterization of ciguatoxin (CTX) concentrations and congener composition is essential for evaluating the potential risk of ciguatera fish poisoning and for supporting evidence-based risk management strategies. In this context, the combined use of bioanalytical and chemical approaches provides complementary information on toxin occurrence and distribution in fish tissues. Despite their proven sensitivity and reliability, techniques such as the Neuro-2a CBA and LC-MS/MS are still largely confined to specialized laboratories, limiting their incorporation into routine surveillance programmes due to analytical complexity, infrastructure requirements, and operational costs.

The application of the optimized extraction and clean-up procedure, including a Florisil-based solid-phase extraction step, resulted in satisfactory matrix removal, and enabled the successful analysis of all samples by LC-MS/MS. Chemical analysis confirmed the occurrence of Pacific ciguatoxins (P-CTXs) in several specimens, demonstrating the suitability of the method for the detection of trace levels of CTXs in complex fish matrices. CTX1B was the predominant analogue identified.

Nevertheless, the limited number of samples and species analysed restricts the ability to draw broader conclusions regarding toxin prevalence and trophic transfer within the study area. Expanding future surveys to include a larger number of specimens, species representing different trophic levels, and multiple sampling locations would improve our understanding of CTX distribution patterns and contribute to a more comprehensive assessment of ciguatera risk in the region.

4. Bibliography

Barreiro-Crespo, L., Sanchez-Henao, A., Gimeno-Monforte, S., Reverté, J., Campàs, M., Tsumuraya, T., ... & Rambla-Alegre, M. (2025a). Toxicity and toxin profile of La Réunion (Indian Ocean) fish containing CTX-like compounds. *Harmful algae*, 147, 102882.

Barreiro-Crespo, L., Sanchez-Henao, A., Gimeno-Monforte, S., Reverté, J., Campàs, M., García-Altares, M., ... & Rambla-Alegre, M. (2025b). Identification of *Gambierdiscus* species from La Réunion and evaluation of toxicity and toxin profile. *Harmful Algae*, 103003.

Document N°SANTE/12682/2019, 2020. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed; implemented by 1 january 2020. European Union: Brussels, Belgium [aqcguidance_sante_2019_12682.pdf](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32019D12682) ([eurl-pesticides.eu](http://eur-lex.europa.eu)).

Murata, K., & Yasumoto, T. (2019). Chemiluminescent receptor binding assay for ciguatoxins and brevetoxins using acridinium brevetoxin-B2. *Toxins*, 11(10), 580.

Reverté, J., Turquet, J., Maillot, F., Cervera-Piñana, J.J., Rambla-Alegre, M., Díaz-Avello, U.G., Skouridou, V., O'Sullivan C.K., Tsumuraya, T., Hiram, M., Alcaraz, C., Diogène, J., Campàs, M., Ciguatoxin occurrence in two predatory fish species from La Réunion Island (South-Western Indian Ocean): Appraisal of analytical tools for ciguatera control. Submitted in 2026.

Tudó, A., Rambla-Alegre, M., Flores, C., Sagristà, N., Aguayo, P., Reverté, L., Campàs, M., Gouveia, N., Santos, C., Andree, K.B., Marques, A., Caixach, J., Diogene, J., 2022. Identification of new CTX analogues in fish from the Madeira and Selvagens Archipelagos by Neuro-2a CBA and LC-HRMS. *Mar. Drugs* 20 (4), 236. <https://doi.org/10.3390/md20040236>.

Supplementary Materials

Table S1. Compound specific LC-MS/MS parameters used for the analysis of selected ciguatoxins. Note: (*) Transition used for quantification.

Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Cone (eV)	Collision Energy (V)	Precursor ion > Product ion
CTX1B	1128.6	95	20	80	$[M+NH_4]^+ > 95$ (*)
	1128.6	109	20	80	$[M+NH_4]^+ > 109$
	1133.6	1133.6	20	30	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
52-epi-54-deoxyCTX1B / 54-deoxyCTX1B	1112.7	1077.7	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1112.7	1059.7	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1117.6	1117.6	20	15	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
CTX4A / CTX4B	1061.6	125.1	20	70	$[M+H]^+ > 125.1$
	1078.6	1043.6	20	15	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1083.6	1083.6	20	15	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$ (*)
CTX3C / CTX3B	1023.6	125.1	20	70	$[M+H]^+ > 125.1$ (*)
	1023.6	155.1	20	20	$[M+H]^+ > 155.1$
	1040.6	1005.6	20	15	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1045.6	1045.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
M- secoCTX3C	1041.6	1023.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1041.6	1005.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1063.6	1063.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
	1041.6	987.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
51-hidroxyCTX3C	1056.5	1003.5	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1056.5	1021.5	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1061.6	1061.1	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
2,3-dihidroxyCTX3C	1074.6	1039.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1074.6	1021.6	20	30	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1079.6	1079.6	20	25	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
gambierone	1025.5	219.1	20	20	$[M+H]^+ > 219.1$
	1025.5	1007.5	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1025.5	927.5	20	20	$[M+H]^+ > \text{fragment}$
44-methyl-gambierone	1039.5	1021.5	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1039.5	941.5	20	20	$[M+H]^+ > \text{fragment}$
C-CTX-1	1158.6	191.1	20	70	$[M+NH_4]^+ > 191.1$
	1158.6	1105.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1158.6	1123.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$

Table S2. Compound specific LC-MS/MS parameters used for the CTX4A-group.

<i>Compound</i>	<i>Precursor (m/z)</i>	<i>Product (m/z)</i>	<i>Cone (eV)</i>	<i>Collision Energy (V)</i>	<i>Precursor ion > Product ion</i>
CTX3C / CTX3B	1023.6	125.1	20	70	$[M+H]^+ > 125.1 (*)$
	1023.6	155.1	20	20	$[M+H]^+ > 155.1$
	1040.6	1005.6	20	15	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1045.6	1045.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
M- secoCTX3C	1041.6	1023.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+ (*)$
	1041.6	1005.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1063.6	1063.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
	1041.6	987.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
51-hidroxyCTX3C	1056.5	1003.5	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1056.5	1021.5	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+ (*)$
	1061.6	1061.1	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
2,3-dihidroxyCTX3C	1074.6	1039.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+ (*)$
	1074.6	1021.6	20	30	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1079.6	1079.6	20	25	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
2-hidroxyCTX3C	1058.6	125.1	20	80	$[M+NH_4]^+ > 125.1$
	1058.6	1005.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1058.6	1023.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1058.6	1041.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1063.6	1063.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
M-secoCTX3C Methyl acetal	1072.6	1037.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1072.6	1055.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1077.6	1077.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
A-seco-51-hidroxyCTX3C	1076.6	1041.6	20	20	$[M+2H_2O-2H]^+ > [M-H]^+$
	1076.6	1059.6	20	20	$[M+2H_2O-2H]^+ > [M+NH_4-H]^+$
	1081.6	1081.6	20	20	$[M+K]^+ > [M+K]^+$
2,3,51-trihidroxyCTX3C	1090.6	1055.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1090.6	1073.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1095.6	1095.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$

Table S3. Compound specific LC-MS/MS parameters used for the CTX3C-group.

Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Cone (eV)	Collision Energy (V)	Precursor ion > Product ion
CTX1B	1128.6	95	20	80	$[M+NH_4]^+ > 95$ (*)
	1128.6	109	20	80	$[M+NH_4]^+ > 109$
	1133.6	1133.6	20	30	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B / 54-deoxyCTX1B	1112.7	1077.7	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$ (*)
	1112.7	1059.7	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1117.6	1117.6	20	15	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
CTX4A / CTX4B	1061.6	125.1	20	70	$[M+H]^+ > 125.1$
	1078.6	1043.6	20	15	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1083.6	1083.6	20	15	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$ (*)
M- secoCTX4A/B	1079.6	125.1	20	80	$[M+H]^+ > 125.1$
	1079.6	1043.7	20	20	$[M+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1096.6	125.1	20	80	$[M+NH_4]^+ > 125.1$
	1096.6	1079.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1101.6	1101.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
7-oxoCTX1B	1144.6	125.5	20	70	$[M+NH_4]^+ > 125.1$
	1144.6	1127.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1149.6	1149.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$
4-hidroxy-7-oxoCTX1B	1162.6	125.5	20	70	$[M+NH_4]^+ > 125.1$
	1162.6	1145.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
	1167.6	1167.6	20	20	$[M+Na]^+ > [M+Na]^+$

Table S4. Compound specific LC-MS/MS parameters used for the C-CTX group.

<i>Compound</i>	<i>Precursor (m/z)</i>	<i>Product (m/z)</i>	<i>Cone (eV)</i>	<i>Collision Energy (V)</i>	<i>Precursor ion > Product ion</i>
C-CTX reaction product 8	1091.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1091.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1091.6	1055.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
	1091.6	1073.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
C-CTX reaction product 9	1093.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1093.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1093.6	1057.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
	1093.6	1075.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
C-CTX-1127	1109.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1109.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1109.6	1073.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
	1109.6	1091.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
C-CTX-1/2	1123.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1123.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1123.6	1087.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
	1141.6	191.1	20	20	$[M+H]^+ > 191.1$
	1158.6	1105.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1158.6	1123.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M-H_2O+H]^+$
C-CTX-3/4	1125.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1125.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1125.6	1089.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-3H_2O+H]^+$
	1125.6	1107.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
C-CTX-1157	1139.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1139.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1139.6	1121.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1157.6	1139.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1174.6	1157.6	20	20	$[M+H_2O+H]^+ > [M+H]^+$

Table S5. Compound specific LC-MS/MS parameters used for the I-CTX group.

<i>Compound</i>	<i>Precursor (m/z)</i>	<i>Product (m/z)</i>	<i>Cone (eV)</i>	<i>Collision Energy (V)</i>	<i>Precursor ion > Product ion</i>
I-CTX-5	1121.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1121.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1121.6	1103.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1139.6	1121.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1156.6	1139.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
I-CTX-1/2	1123.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1123.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1123.6	1105.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1141.6	1123.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1158.6	1141.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
I-CTX-6	1137.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1137.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1137.6	1119.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1155.6	1137.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1172.6	1155.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$
I-CTX-3/4	1139.6	108.9	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 108.9$
	1139.6	191.1	20	70	$[M-H_2O+H]^+ > 191.1$
	1139.6	1121.6	20	20	$[M-H_2O+H]^+ > [M-2H_2O+H]^+$
	1157.6	1139.6	20	20	$[M+H]^+ > [M-H_2O+H]^+$
	1174.6	1157.6	20	20	$[M+NH_4]^+ > [M+H]^+$

Name and signature of the main author	Name and signature of The Program Head



**Generalitat
de Catalunya**

IRTA^R

Institute
of Agrifood Research
and Technology