

Nantes, 16/02/2023

### Concerning: Certificate of Scientific Contribution

The undersigned Philipp Hess, Director of the PHYTOX Unit Ifremer Centre Atlantique and Co-Director of the French Research Network “GdR Phycotox”, hereby certifies that:

**Francesco Pisapia**

- attended the French National Conference **GdR Phycotox 2016** (<https://phycotox2016.sciencesconf.org/>), with a total duration of 17 hours, held from March 15<sup>th</sup> to 16<sup>th</sup> 2016 in the Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV), Villefranche-sur-Mer (France), and
- delivered an **oral presentation** entitled: “Toxicity screening of 13 *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays”.



Institut français de Recherche  
pour l'Exploitation de la Mer  
Etablissement public à caractère  
industriel et commercial

Centre Atlantique  
Rue de l'Île d'Yeu  
B.P. 21105  
44311 Nantes Cedex 3 - France  
+33 (0)2 40 37 40 00

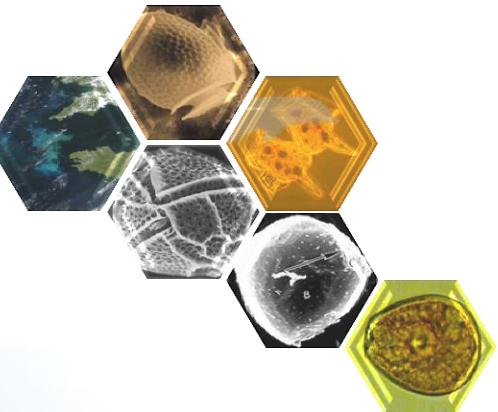
Siège Social  
1625 route de Sainte-Anne  
CS 10070  
29280 Plouzané  
France  
R.C.S. Brest B 330 715 368  
APE 7219Z  
SIRET 330 715 368 00032  
TVA FR 46 330 715 368  
+33 (0)2 98 22 40 40

[www.ifremer.fr](http://www.ifremer.fr)



# Phycotox

Groupement de Recherche



## CONFÉRENCE NATIONALE DU GDR PHYCOTOX SUR LES MICROALGUES TOXIQUES



VILLEFRANCHE-SUR-MER  
15 ET 16 MARS 2016

## **COMITE SCIENTIFIQUE D'ORGANISATION**

RODOLPHE LEMÉE – OOV- UPMC - CNRS, UMR 7093

HÉLÈNE HÉGARET - IUEM - LEMAR

RÓMULO ARÁOZ - CNRS, UMR9197 - CEA-SIMOPRO

PHILIPP HESS - IFREMER - NANTES PHYC



## **REMERCIEMENTS :**

Nous souhaitons remercier l'Observatoire Océanologique de Villefranche d'avoir accueilli cette conférence dans ses locaux et nous avoir offert l'apéritif, la Salle des Filets de la Station Zoologique d l'OOV pour leur accueil le lundi 15 mars, et la Mairie de Villefranche-sur-Mer pour son soutien.

Nous remercions le CNRS, l'IFREMER, l'ANSES et la Société NOVAKITS dans la personne de Sylvain ENGUEHARD pour son soutien financier.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui se sont impliquées dans l'organisation de cette conférence: Yves Larssonneur, Anne-Sophie Pavaux, Daniela Catania, Sophie Marro et sûrement bien d'autres qui nous aideront le jour D. merci!

11h40 -12h00 – Justine Castrec :Comparative study of the behavioral and physiological responses of the oyster *Crassostrea gigas* exposed to three strains of *Alexandrium minutum* producing different toxin types

12h00 – 12h20 - Khadidja Klouch : Historical records from dated sediment cores unveiled the multidecadal dynamics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* in the Bay of Brest (France)

**12h20 -12h30 – Discussion libre - questions**

**12h30 – 14h00 Repas (buffet Citadelle)**

**SESSION 6 : Session Jeunes Chercheurs 2 (Chair : Ronel Biré)**

14h00 -14h30 – [Conférence invitée](#) Walid Medhioub : « Contamination des mollusques bivalves par les phycotoxines dans le Golfe de Gabès, état des lieux et perspectives futures »

14h30 -14h50 – Francesco Pisapia : Toxicity screening of *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays

14h50 -15h10 – Jimmy Alarcan : In vitro investigation on the human metabolism of lipophilic phycotoxins PTX-2 and SPX-1 using liquid chromatography hyphenated with high resolution Orbitrap mass spectrometry

15h10 -15h30 – Marc Long : Kinetics of the allelopathic activity of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* upon the photosystem II of the diatom *Chaetoceros neogracile*

**15h30 -15h40 – Discussion libre - questions**

**15h40 -16h10 – Pause-Café (posters)**

**SESSION 7 : Mini-projets GdR : (Chair : Raffaele Siano)**

16h10 -16h30 –Amandine Gaudin : Purification and Characterization of Portimine, the Smallest Cyclic Imine Toxin Produced by *Vulcanodinium rugosum* (French Isolate)

16h30 - 16h50 –Evelyne Benoit : Voltage-gated sodium channels of *Crassostrea gigas* oyster nerves: electrophysiological evaluation, ex vivo, of their sensitivity to paralytic shellfish toxins

**16H50-17H00 – CLOTURE DE LA PARTIE CONFERENCE**

**Jeudi 17 mars**

**Salle Trégouboff, Station Zoologique, OOV**

**9h00 – 12h30 : Comité de pilotage du GdR PHYCOTOX**

**14h00 -17h00 : Réunions d’incubations projets (ANR, H2020, etc.).**

# Toxicity screening of *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays

Francesco Pisapia \*†<sup>1</sup>, William Holland<sup>2</sup>, Ransom Hardison<sup>2</sup>, Wayne Litaker<sup>2</sup>, Santiago Fraga<sup>3</sup>, Tomohiro Nishimura<sup>4</sup>, Masao Adachi<sup>4</sup>, Lam Nguyen-Ngoc<sup>5</sup>, Véronique Séchet<sup>1</sup>, Zouher Amzil<sup>1</sup>, Christine Herrenknecht<sup>6</sup>, Philipp Hess<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer - Nantes (IFREMER Nantes) – Université de Nantes – Rue de l'Ile d'Yeu - BP 21105 - 44311 Nantes Cedex 03, France

<sup>2</sup> National Oceanic Atmospheric Administration - NOAA (USA) – États-Unis

<sup>3</sup> Centro Oceanográfico de Vigo (IEO (Instituto Español de Oceanografía)) – Subida a Radio Faro 50, 36390 Vigo, Spain, Espagne

<sup>4</sup> Faculty of Agriculture, Kochi University – Nankoku, Kochi, Japan, Japon

<sup>5</sup> Institute of Oceanography, Cauda 01 – Vinh Nguyen, Nha Trang, Viet Nam, Viêt Nam

<sup>6</sup> LUNAM, University of Nantes, MMS EA2160, Pharmacy Faculty (LUNAM) – Université de Nantes – 9 rue Bias, F-44035 Nantes, France, France

The genus *Gambierdiscus* is constituted by benthic dinoflagellates that produce ciguatoxins (CTXs) and maitotoxins (MTXs), which are among the most potent marine toxins known to date. CTXs are bio-accumulated and biotransformed along the marine food chain and are involved in Ciguatera Fish Poisoning (CFP). An increasing number of species has recently been discovered in this genus and CFP has recently been reported from areas previously not considered endemic, namely the Canary Islands. Little is known about how toxicity varies among species and isolates of *Gambierdiscus*.

This study examined the toxicity of 13 strains of *Gambierdiscus*, seven from the Pacific Ocean (*G. pacificus* CCMP 1650, *G. sp.* VGO 917, *G. australis* CCMP 1653, *G. scabrosus* KW070922\_1, *G. sp.* Vietnam, *G. caribaeus* BILL HI Gam8, *G. carpenteri* PAT HI Jar7 Gam11), one from the Mediterranean Sea (*G. carolinianus* Greece Gam2), and five from the North-Eastern Atlantic Ocean (*G. australis* VGO 1178, *G. australis* VGO 1181, *G. silvae* VGO 1167, *G. silvae* VGO 1180, *G. excentricus* VGO 791). Algal cells were extracted with methanol and extracts were partitioned between dichloromethane (DCM) and aqueous methanol (aq. MeOH). The toxicity has been evaluated on the pre-purified extracts using an ouabain/veratridine (O/V) neuro-2a (N2a) assay and a human erythrocyte lysis assay (ELA).

In general terms, all strains showed hemolytic activity in the aq. MeOH fraction in the range of pg MTX eq/cell, and N2a cytotoxicity in the DCM fraction in the range of fg P-CTX-3C eq/cell. *G. excentricus* (Canary Islands) was an exception, with a N2a cytotoxicity in the range of pg P-CTX-3C eq/cell, in accordance with data previously reported by Fraga et al. (2011).

Keywords: Ciguatera Fish Poisoning, *Gambierdiscus*, ciguatoxins, maitotoxins, neuro-2a assay, erythrocyte lysis assay.

\*Intervenant

†Auteur correspondant: francesco.pisapia@ifremer.fr

objet :  
attestation de participation et de  
contribution scientifique à la  
conférence nationale du GdR  
PHYCOTOX, Villefranche-sur-Mer  
14-16 mars 2016

## A l'intention de l'école doctorale VENAM

Nantes, le 6 avril 2016

Pour valoir ce que de droit,

Je soussigné, Philipp HESS, confirme que Mr Francesco PISAPIA a participé à la conférence nationale du GdR PHYCOTOX qui a eu lieu à Villefranche-sur-Mer, du 14-16 mars 2016. Le doctorant a également présenté ses travaux de recherché à travers une présentation orale intitulée «Toxicity screening of *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays » (F. Pisapia et al., 2016).

Institut français de Recherche  
pour l'Exploitation de la Mer

## Etablissement public à caractère industriel et commercial

**Centre de Nantes**  
Rue de l'île d'Yeu  
B.P. 21105  
44311 Nantes cedex 3  
France

téléphone 33 (0)2 40 37 40 00  
télécopie 33 (0)2 40 37 40 01  
<http://www.ifremer.fr>

Cordialement,

Philip H.S.

**Siège social**  
155, rue Jean-Jacques Rousseau  
92138 Issy-les-Moulineaux Cedex  
France

R.C.S. Nanterre B 330 715 368  
APE 7219Z  
SIRET 330 715 368 00297  
TVA FR 46 330 715 368

téléphone 33 (0)1 46 48 21 00  
télécopie 33 (0)1 46 48 21 21  
<http://www.ifremer.fr>

Philippe Hess

## ***Senior Researcher***

### **Laboratoire Phycotoxines**

Ifremer - BP 21105, Rue de l'Île d'Yeu  
44311 Nantes CEDEX 03, France

<http://annuaire.ifremer.fr/cv/17128/en/> - <http://www.iuml-cnrs.fr/>

Directeur GdB PHYCOTOX Ifremer - CNRS 3659

<http://www.phycotox.fr>

Tél : int'l + 33 2 40 37 /

Mob : intl +33 6 83 43 88 35

Mob.: intl. + 33 6 82 43 88 23  
Fax : intl. + 33 2 40 37 42 41

mail: Philipp.Hess@ifremer.fr



**Phycotox**

Groupement de Recherche

Hélène Hégaret  
Directrice du GdR PHYCOTOX  
Laboratoire des sciences de l'environnement marin  
Institut Universitaire Européen de la Mer  
Université de Bretagne Occidentale  
Technopole Brest Iroise  
29280 Plouzané,  
France  
02 98 49 88 01  
Helene.hegaret@univ-brest.fr

---

Plouzané, 15/02/2023

Objet: Attestation de présence à la conférence nationale sur les microalgues toxiques du GdR PHYCOTOX

A qui de droit,

Par la présente, j'atteste de la participation de Francesco Pisapia aux conférences nationales annuelles sur les microalgues toxiques du GdR PHYCOTOX en 2015, 2016 et 2017.

J'atteste qu'il a présenté :

- un poster intitulé "Culture of Gambierdiscus strains for the evaluation of extraction efficiency and inter- and intra-specific variability of growth as function of nutrition" lors de conférence GdR Phycotox & GIS Cyano 2015, Brest (France), du 31 mars au 2 avril 2015 (durée de la conférence en heures: 33 heures)
- une présentation orale intitulée "Toxicity screening of 13 Gambierdiscus strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays" lors de conférence GdR Phycotox 2016, LOV, Villefranche-sur-Mer (France), du 15 au 16 mars 2016 (durée de la conférence en heures: 17 heures)
- une presentation orale intitulée: "Maitotoxin-4, a novel MTX analog produced by Gambierdiscus excentricus" lors de conférence GdR Phycotox & GIS Cyano 2017, Gif-sur-Yvette (France), du 14 au 16 mars 2017 (durée de la conférence en heures: 24.5 heures).

Cordialement

HEGARET Hélène  
Directrice du GdR PHYCOTOX