

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 058

**MISE EN PLACE D'UNE METHODE DIAGNOSTIQUE DE
L'INTOXICATION AUX MYCOTOXINES TREMORIGENES
CHEZ LE CHIEN**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 14 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

MERKLING Axel

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2022 - Thèse n° 058

**MISE EN PLACE D'UNE METHODE DIAGNOSTIQUE DE
L'INTOXICATION AUX MYCOTOXINES TREMORIGENES
CHEZ LE CHIEN**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 14 octobre 2022
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

MERKLING Axel

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (14-09-2022)

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Dr	BECKER	Claire	Maître de conférences
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Dr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Pr	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELLOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur
Pr	PONCE	Frédérique	Professeur
Pr	PORTIER	Karine	Professeur
Dr	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Pr	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr	REMY	Denise	Professeur
Dr	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr	ROGER	Thierry	Professeur
Dr	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr	SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr	SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Pr	VIGUIER	Eric	Professeur
Dr	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements

À Monsieur le Professeur Gilles DEVOUASSOUX
De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Mes hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Philippe BERNY,
De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour avoir accepté d'encadrer et de corriger ce travail,
Pour son soutien, sa bienveillance et son dévouement,
Veuillez trouver ici mes plus sincères remerciements et l'expression de toute ma gratitude.

À Monsieur le Docteur Laurent ALVES-DE-OLIVEIRA
De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour avoir accepté de prendre part à ce travail et de participer à ce jury de thèse
Mes remerciements les plus sincères.

À Monsieur le Docteur Stéphane QUEFFÉLEC
Du CNITV, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir permis d'accéder aux ressources ayant permis la réalisation de cette thèse, et avoir
accepté de faire partie de ce jury,
Mes remerciements les plus sincères.

Table des matières

Table des Annexes	21
Table des Figures	23
Table des Tableaux	27
Liste des abréviations	29
Introduction	31
Partie I : Étude bibliographique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien	33
I) Présentation générale des mycotoxines trémorigènes et de leurs moisissures sécrétrices	33
A) Les moisissures productrices de mycotoxines trémorigènes	33
1) Définitions	33
1. Moisissures	33
2. Mycotoxines	33
2) Les moisissures synthétisant les mycotoxines trémorigènes	35
1. Classes, familles	35
2. Importance, présence dans l'environnement	36
3) Développement des moisissures et sécrétion de mycotoxines trémorigènes	36
1. Facteurs environnementaux de la croissance mycélienne et de la synthèse de mycotoxines chez différentes espèces de moisissures	36
a) L'Activité en eau (Aw).....	37
b) La température.....	37
c) Le pH.....	39
d) La composition atmosphérique	39
e) La lumière	41
f) Nature du substrat	41
g) Les substances chimiques exogènes du milieu	41
h) La compétition entre micro-organismes.....	42
2. Les particularités du développement des moisissures sécrétrices de mycotoxines trémorigènes responsables d'intoxications chez le chien.....	44
a) Particularités du développement de <i>Penicillium crustosum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	44
b) Conditions environnementales influençant sur la synthèse de roquefortine C	47
c) Conditions environnementales influençant sur la synthèse de pénitrème A	50
3. Les autres mycotoxines trémorigènes	56
a) Diversité des espèces sécrétrices, des mycotoxines trémorigènes et des aliments altérés	57

b) Conditions de synthèse et risque d'intoxication des différentes espèces animales	58
B) Caractéristiques des mycotoxines trémorigènes.....	61
1) Structure et propriétés physico chimiques	61
1. Structure.....	61
2. Propriétés physico chimiques.....	64
2) Diversité, histoire et interrogations	64
1. Limites de définition, et d'étude	64
2. Découverte et intérêt d'étude.....	65
3. Discussions autour de certaines mycotoxines.....	66
3) Synthèse	67
1. Caractéristiques générales des voies de synthèse des mycotoxines	67
2. Caractéristiques spécifiques de la synthèse des mycotoxines trémorigènes	68
a) La biosynthèse du pénitrème A.....	68
b) La biosynthèse de la roquefortine C	74
4) Pharmacocinétique	76
1. Absorption	76
a) Voie orale	76
b) Autres voies.....	76
2. Distribution.....	77
3. Métabolisme, dégradation	77
4. Excrétion, réabsorption	78
5) Pharmacodynamique	79
1. Neurotoxicité.....	79
a) Action sur les cellules de Purkinje et sur ses neuromédiateurs.....	80
b) Action sur le récepteur GABA	82
c) Induction de stress oxydatif	83
d) Action sur canaux potassiques calcium dépendants à grande conductance (BK)	84
e) Autres actions au niveau du système nerveux central	85
2. Autres toxicités.....	86
a) Effet sur les muscles striés et la synapse neuro-musculaire	86
b) Effet sur les muscles lisses	87
c) Génotoxicité	88
6) Domaines d'utilisation actuel et futur	88
II) Description de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien	91
A) Aspects pratiques et cliniques de l'intoxication du chien aux mycotoxines trémorigènes	91
1) Exposition des animaux.....	91

1. Dénrées incriminées.....	91
a) Aliments moisiss, déchets alimentaires et compost.....	91
b) Noix moisiss	92
c) Quantités nécessaires pour induire une intoxication chez le chien.....	92
d) Différents substrats alimentaires mais une même intoxication.....	93
2. Mycotoxines impliquées dans l'intoxication.....	93
3. Caractéristiques des chiens intoxiqués.....	95
a) Comportement explorateur et curieux de l'espèce canine.....	95
b) Aspect glouton, et opportuniste du chien.....	95
c) Influence de la race, du sexe et de l'âge.....	95
4. Circonstances d'exposition.....	99
a) L'intoxication aux noix moisiss.....	99
b) L'intoxication aux aliments moisiss.....	103
2) Symptômes.....	105
1. Délai d'apparition des symptômes.....	105
2. Nature des symptômes.....	106
a) Les symptômes neuro-musculaires.....	106
b) Les troubles digestifs.....	108
c) Les symptômes généraux.....	109
d) Les modifications comportementales.....	110
e) Les autres symptômes.....	111
f) Modifications biochimiques, de l'hémogramme et de l'ionogramme.....	111
3. Fréquence et ordre d'apparition des symptômes.....	112
4. Durée et persistance des symptômes, pronostic, séquelles et taux de létalité.....	113
3) Traitement.....	114
1. Un traitement en absence d'antidote.....	114
2. Traitement éliminatoire.....	114
a) Induction de vomissements.....	115
b) Lavage gastrique.....	116
c) Adsorbants.....	116
d) Laxatifs.....	117
e) Gastrotomie.....	117
f) Émulsions lipidiques intraveineuses (ELI).....	117
3. Traitement symptomatique.....	119
a) Traitement des troubles neurologiques.....	119
b) Traitement des troubles digestifs.....	122

c) Traitement des troubles cardio respiratoires, et de l'hyperthermie	122
d) Intérêt de la fluidothérapie	123
4. Vers de nouveaux agents thérapeutiques ?	123
B) l'intoxication expérimentale aux mycotoxines trémorigènes	123
1) Chez le chien.....	123
1. Description et objectifs de l'étude	124
2. Matériel et méthodes.....	124
3. Résultats et discussion	125
a) Délai d'apparition des symptômes.....	125
b) Symptômes.....	125
c) Modifications des activités enzymatiques.....	126
d) Modifications de l'hémogramme	126
e) Biochimie.....	126
f) Lésions observées à l'autopsie.....	127
4. Discussion	128
2) Les doses létales et toxiques des mycotoxines trémorigènes chez le chien.....	128
1. Définitions	128
2. La roquefortine C.....	129
3. Le pénitrème A	129
C) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien	130
1) Un diagnostic clinique, épidémiologique et anamnestique.....	130
1. Des signes cliniques peu spécifiques.....	130
2 Diagnostic différentiel	130
a) Un diagnostic différentiel très vaste	130
b) Élément en faveur de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes	131
3. L'intérêt de l'anamnèse dans le diagnostic	132
4. Éléments de suspicion spatio-temporels	133
2) Connaissance des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires	133
1. Un toxique peu fréquent et connu des praticiens vétérinaires	133
2. Une intoxication sous diagnostiquée	134
3. Facteurs influençant la connaissance du toxique.....	135
3) Un diagnostic de certitude analytique	135
1. Détection des moisissures.....	136
a) Méthodes de détection	136
b) Intérêt et réalisation pratique en France	137
2. Détection des mycotoxines trémorigènes	137

a) Méthodes de détection	137
b) Intérêt du diagnostic analytique	139
c) Une analyse compliquée par un manque de données	140
d) Réalisation pratique en France	141

Partie II : Étude rétrospective, prospective et analytique de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes grâce aux données du CNITV et aux méthodes analytiques du laboratoire Toxlab.....143

I) Objectifs143

A) Étude rétrospective.....	143
B) Étude prospective	143
C) Étude analytique	144

II) Matériel et méthode145

A) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication aux mycotoxines tremorigènes et/ou aux noix moisies

1) Le CNITV et la base de données V-Tox®	145
1. Présentation du CNITV	145
2. Le logiciel et la base de données V-Tox®	145

2) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies.....

1. Période d'étude	149
2. Sélection des appels de suspicion d'intoxication dans la base de données V-Tox®	149
3. Analyses statistiques	150
4. Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie	150

3) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines tremorigènes.....

1. Période d'étude	150
2. Sélection des appels de suspicion	150
3. Analyses statistiques	151
4. Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie	152

B) Étude prospective de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes de Mars 2021 à Avril 2022 au CNITV

1) Période d'étude.....	152
2) Sélection cas de suspicion et modalités de rappel des vétérinaires	152
3) Questionnaire téléphonique destiné aux vétérinaires appelants.....	153
4) Analyse statistique des réponses au questionnaire.....	154
5) Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie	154

C) Étude analytique, méthode d'analyse du laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab.....	154
1) Présentation de Toxlab	154
2) Description du protocole analytique de dosage quantitatif du pénitrème A et de la roquefortine C par LC-MS/MS dans l'urine à Toxlab.....	155
1. Matériel et réactifs	155
2. Préparation des solutions étalons, étalonnage et préparation des phases mobiles	156
3. Préparation des échantillons urinaires à analyser	157
4. Analyse des échantillons par LC-MS/MS	157
5. Contrôle qualité et actions correctives	158
3) Analyse d'échantillons urinaires provenant de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes.....	158
1. Contexte et période d'étude	158
2. Origine des échantillons urinaires analysés	158
3. Méthode de prélèvement, conditions de transport et de conservation des échantillons urinaires.....	159
III) Résultats	160
A) Études rétrospectives	160
1) Résultats de l'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies.....	160
1. Caractéristiques des appels.....	161
a) Motifs d'appels et qualité des appelants	161
b) Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV.....	162
c) Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique	163
2. Contexte d'exposition	163
a) Répartition annuelle et mensuelle des appels	163
b) Répartition géographique des appels	165
c) Lieux et circonstances des intoxications	166
3. Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication	168
a) Race et sexe des animaux	168
b) Age et poids des animaux	169
c) État des animaux au moment de l'appel.....	169
4. Toxiques suspectés.....	170
a) Nature et dose du substrat ingéré	170
b) Imputation du toxique	171
c) Diagnostic différentiel	171
d) Origine de la suspicion du toxique	172
5. Symptomatologie	172

a) Délai d'apparition des symptômes.....	172
b) Symptômes neuro-musculaires.....	173
c) Symptômes digestifs.....	174
d) Symptômes généraux.....	175
e) Modifications comportementales.....	176
f) Autres symptômes	176
6. Traitement et évolution	177
a) Traitement.....	177
b) Évolution	178
2) Résultats de l'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines tremorigènes.....	179
1. Caractéristiques des appels.....	179
a) Motifs d'appels et qualité des appelants	179
b) Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV.....	179
c) Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique	180
2. Contexte d'exposition	180
a) Répartition mensuelle des appels	181
b) Répartition géographique des appels	183
c) Lieux et circonstances des intoxications	186
3. Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication	188
a) Race et sexe des animaux	188
b) Age et poids des animaux	190
c) État des animaux au moment de l'appel.....	191
4. Toxiques suspectés.....	192
a) Nature du substrat ingéré	192
b) Dose ingérée	193
c) Imputation du toxique.....	193
d) Diagnostic différentiel.....	194
e) Origine de la suspicion du toxique	194
5. Symptomatologie	195
a) Délai d'apparition des symptômes.....	195
b) Symptômes neuro-musculaires.....	195
c) Symptômes digestifs.....	197
d) Symptômes généraux.....	197
e) Modifications comportementales.....	199
f) Autres symptômes	199

6. Traitement et évolution	200
a) Traitement.....	200
b) Évolution	201
B) Étude prospective	202
1) Évolution des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes	202
1. Taux de létalité	202
2. Taux de rémission et délai de récupération	202
3. Séquelles.....	204
2) Prise en charge des animaux intoxiqués par les praticiens.....	205
1. Hospitalisation des animaux.....	205
a) Taux d'hospitalisation	205
b) Durée d'hospitalisation	206
2. Traitements administrés.....	207
a) Nature des traitements	207
b) Durée des traitements	210
c) Réponses des animaux aux traitements administrés	211
3) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes	214
1. Origine de la suspicion.....	214
2. Diagnostic différentiel	217
4) Épidémiologie de l'intoxication.....	218
1. Répétition de cas d'intoxication sur une même période	218
a) Zone à risque	218
b) Période à risque	218
c) Animal à risque	218
2. Fréquence de l'intoxication	219
5) Connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leurs effets toxiques par les vétérinaires	219
1. Connaissance des mycotoxines trémorigènes	219
2. Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes.....	220
a) Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine	220
b) Connaissance de la toxicité des noix moisies.....	221
3. Évaluation des connaissances acquises sur les mycotoxines trémorigènes lors des études en école vétérinaire.....	222
4. Origine de la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité	223
6) Évaluation de l'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes.....	224
1. Certitude de l'origine des symptômes	224

2. Intérêt de l'analyse lors des cas recensés dans l'étude	225
3. Volonté d'analyse des propriétaires.....	226
C) Étude analytique	228
1) Origine des échantillons urinaires analysés	228
1. Description du déroulement des intoxications et de l'évolution de l'état des animaux	228
2. Délai de réalisation et méthode de prélèvement	229
2) Transport et analyse des échantillons urinaires	230
1. Étapes du transport des échantillons urinaires.....	230
2. Résultats de l'analyse des échantillons urinaires par LC-MS/MS.....	230
IV) Discussion.....	231
A) Études rétrospectives	231
1) Limites des études.....	231
1. Limites de l'étude rétrospective menée de janvier 2009 à décembre 2019.....	231
2. Limites de l'étude rétrospective menée Février 2021 à Mars 2022	232
2) Caractéristiques des appels.....	232
1. Motifs d'appels et qualité des appelants	232
2. Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV.....	233
3. Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique	234
3) Contexte d'exposition	234
1. Répartition annuelle et mensuelle des appels	234
a) Répartition mensuelle et trimestrielle des appels	234
b) Répartition annuelle des appels.....	235
c) Influence du substrat alimentaire	236
2. Répartition géographique des appels	236
a) Appels liés à la consommation de noix moisis	236
b) Appels liés à d'autres substrats alimentaires.....	237
3. Lieux et circonstances des intoxications	238
a) Appels liés à la consommation de noix moisis	238
b) Appels liés à d'autres substrats alimentaires.....	238
4) Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication	239
1. Race, sexe et poids des animaux	239
a) Influence de la race et du poids	239
b) Influence du sexe	240
2. Age des animaux.....	240
3. État des animaux au moment de l'appel.....	241
5) Toxiques suspectés.....	241

1. Nature et dose du substrat ingéré	241
2. Imputation du toxique.....	242
3. Diagnostic différentiel	242
4. Origine de la suspicion du toxique	242
6) Symptomatologie	243
1. Délai d'apparition des symptômes.....	243
2. Symptômes neuro-musculaires.....	243
3. Symptômes digestifs.....	244
4. Symptômes généraux.....	245
5. Modifications comportementales.....	246
6. Autres symptômes.....	246
a) Signes oculaires	246
b) Anomalies biochimiques, de l'hémogramme et de l'ionogramme.....	247
7) Traitement et évolution	247
1. Traitement.....	247
2. Évolution.....	248
B) Étude prospective	248
1) Limites de l'étude.....	248
2) Évolution des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes	249
1. Taux de létalité.....	249
2. Taux de rémission et délai de récupération	249
3. Séquelles.....	250
3) Prise en charge des animaux intoxiqués par les praticiens.....	250
1. Hospitalisation des animaux.....	250
a) Taux d'hospitalisation	250
b) Durée d'hospitalisation	251
2. Traitements administrés.....	251
a) Nature des traitements	251
b) Durée du traitement	254
c) Réponses des animaux aux traitements administrés.....	255
4) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes	257
1. Origine de la suspicion.....	257
a) Éléments à l'origine de la suspicion	257
b) Éléments clefs de l'anamnèse	258
c) Intérêt de l'analyse du contenu des vomissements.....	258
2. Diagnostic différentiel	259

5) Épidémiologie de l'intoxication.....	259
1. Répétition de cas d'intoxication sur une même période	259
a) Zone à risque	259
b) Période à risque	260
c) Animal à risque	260
2. Fréquence de l'intoxication	260
6) Connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leurs effets toxiques par les vétérinaires	261
1. Connaissance des mycotoxines trémorigènes	261
2. Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes.....	262
a) Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine	262
b) Connaissance de la toxicité des noix moisis.....	263
3. Évaluation des connaissances acquises sur les mycotoxines trémorigènes lors des études en école vétérinaire.....	263
4. Origine de la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité	264
7) Évaluation de l'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes.....	266
1. Certitude de l'origine des symptômes	266
2. Intérêt de l'analyse lors des cas recensés dans l'étude	266
3. Volonté d'analyse des propriétaires.....	267
C) Étude analytique	268
1) Limites de l'étude	268
2) Résultats de l'analyse des échantillons urinaires par LC-MS/MS.....	269
3) Origine possible de l'absence de détection des mycotoxine	269
1. Autre étiologie.....	269
2. Moment de réalisation du prélèvement urinaire.....	269
3. Stabilité des mycotoxines trémorigènes dans l'urine	270
4. Défaillance de la méthode analytique.....	270
Schéma Bilan : Méthode diagnostique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien	272
Conclusion	273
Bibliographie.....	275
Annexes	287

Table des Annexes

Annexe 1 : Cas d'intoxications canines au pénitrem A ou à la roquefortine C démontrés par analyse	287
Annexe 2 : Race, sexe, âge et poids des chiens victimes d'intoxication au pénitrem A ou à la roquefortine C démontrée par analyse.....	289
Annexe 3 : Exemple d'une fiche V-Tox® complétée lors d'une suspicion d'intoxication animale (Source : CNITV).....	290
Annexe 4 : Questionnaire de l'étude prospective à destination de vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes (Source : MERKLING Axel).....	291
Annexe 5 : Fiche d'accompagnement des prélèvements urinaires destinés à un dosage des mycotoxines trémorigènes (Source : MERKLING Axel)	292

Table des Figures

Figure 1 : Effet de la température et de l'activité en eau sur le taux de croissance de la moisissure <i>Penicillium verrucosum</i> cultivée sur des cellules de grain de blé (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)..	38
Figure 2 : Influence du pH sur la croissance de <i>Fusarium proliferatum</i> et sur la production de fuminosine B1 (d'après Keller et al., 1997)	39
Figure 3 : Effet de l'activité en eau et de la composition en CO ₂ atmosphérique sur la croissance de <i>Penicillium verrucosum</i> et sa production d'ochratoxine (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)	40
Figure 4 : Effets de la température et de l'activité en eau sur la croissance de <i>Penicillium verrucosum</i> et sur sa production d'ochratoxine A (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)	43
Figure 5 : Effets de la température et de l'activité en eau sur la croissance d'une espèce d' <i>Aspergillus</i> et sur sa production d'ochratoxine A (issu de Fangeat, 2008)	43
Figure 6 : Influence du pH, de la température et de l'activité en eau sur la croissance de <i>Penicillium roqueforti</i> (d'après Gock et al., 2003)	45
Figure 7 : Taux de croissance relatifs de <i>Penicillium crustosum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i> en fonction de l'Aw (à 20°C), et de la température (avec une Aw= 0,99) (d'après Camardo Leggieri et al., 2017). 46	46
Figure 8 : Modélisation des conditions de température et d'Aw nécessaires pour atteindre un taux de croissance relatif d'au moins 50 % pour différentes espèces de moisissures (issu de Camardo Leggieri et al., 2017)	46
Figure 9 : Effets de différents facteurs abiotiques sur la production de roquefortine C (barres grises) et d'acide mycophénolique (barres blanches) par <i>Penicillium roqueforti</i> (d'après Fontaine et al., 2015)	48
Figure 10 : Effet de la composition atmosphérique en CO ₂ et en O ₂ sur la production de roquefortine C (en µg pour 10g de fromage) (d'après Taniwaki et al., 2001)	49
Figure 11 : Effet de la composition du substrat (a), de la température (b), du pH (c) et de l'exposition à la lumière (d) sur la production de pénitrème A (en mg/g de matière sèche) par <i>Penicillium crustosum</i> (d'après Kalinina et al., 2017)	50
Figure 12 : Effet de la source de carbone sur la synthèse des pénitrèmes par <i>Penicillium crustosum</i> (d'après Kalinina et al., 2017)	52
Figure 13 : Effet de l'Aw sur la production des pénitrèmes A à F par <i>Penicillium crustosum</i> (d'après Kalinina et al., 2017)	53
Figure 14 : Effets de l'eau oxygénée et du sulfate de cuivre sur la production de pénitrème A par <i>Penicillium crustosum</i> (d'après Kalinina et al., 2017)	54
Figure 15 : Production de pénitrème A par <i>Penicillium crustosum</i> sur différents substrats alimentaires (d'après Kalinina et al., 2017)	55
Figure 16 : Structures de quelques composés trémorigènes du groupe des indoles diterpènes (issu de Evans and Gupta, 2018)	62
Figure 17 : Structures des pénitrèmes (issu de Kalinina et al., 2016)	62
Figure 18 : Structure de la roquefortine C (issu de Rathnayake et al., 2020)	63
Figure 19 : Voies de biosynthèses principales des mycotoxines (issu de Gauthier, 2016a)	68
Figure 20 : Cluster de gènes de la paxilline chez l'espèce <i>Penicillium Paxilli</i> (d'après Young et al., 2001)	69
Figure 21 : Biosynthèse de la paspaline chez <i>Penicillium Paxilli</i> (issu de Kozák et al., 2019)	70
Figure 22 : Clusters de gènes impliqués dans la biosynthèse d'indoles diterpènes (issu de Kozák et al., 2019)	71
Figure 23 : Biosynthèse des indoles diterpènes dérivant de la paspaline (issu de Kozák et al., 2019). 72	72

Figure 24 : Formation du cycle bicyclo [3.2.0] heptane au cours de la synthèse du pénitrème A (d'après Liu et al., 2016b).....	73
Figure 25 : cluster de gènes responsables de la synthèse de la roquefortine C et de méléagrine chez l'espèce <i>Penicillium chrysogenum</i> (issu de Gu et al., 2013)	74
Figure 26 : Biosynthèse de la roquefortine C chez <i>Penicillium chrysogenum</i> (issu de Gu et al., 2013) 75	
Figure 27 : Organisation spatiale du cervelet, coupe longitudinale (ENS Lyon, 2002)	80
Figure 28 : Les connections intercellulaires cérébelleuses et les neurotransmetteurs impliqués (d'après Ito and Itō, 1984).....	81
Figure 29 : Schéma bilan de l'activité neurotoxique du pénitrème A (issu de Lheureux et al., 2018) .	86
Figure 30 : Distribution du noyer commun (<i>Juglans regia</i>) en Europe (issu de Caudullo et al., 2017) 100	
Figure 31 : Répartition annuelle et trimestrielle des appels reçus au CNITV pour des intoxications canines aux noix moisies jugées probables ou certaines entre 2009 et 2015 (issu de Adamczyk et al., 2016).....	101
Figure 32 : Répartition annuelle et mensuelle des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes au CAPAE-Ouest de 2005 à Juin 2016 (issu de Lheureux et al., 2018)	102
Figure 33 : Répartition mensuelle des catégories d'aliments dans les suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CAPAE-Ouest de 2005 à Juin 2016 (issu de Lheureux et al., 2018) ...	102
Figure 34 : Délai d'apparition des signes cliniques dans les cas démontrés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes.....	105
Figure 35 : fréquence d'apparition des différents groupes de symptômes lors d'une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes	112
Figure 36 : Délai de récupération des chiens suite à une intoxication aux mycotoxines trémorigènes	113
Figure 37 : Différentes méthodes de dosage physico chimiques de mycotoxines d'intérêt dans l'alimentation des animaux de rente (d'après Fangeat, 2008)	138
Figure 38 : Qualité des appelants du CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	161
Figure 39 : Motifs des appels reçus par le CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	162
Figure 40 : Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques des chiens suspects d'intoxication aux noix moisies et l'appel au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	163
Figure 41 : Répartition annuelle et trimestrielle des appels de suspicion d'intoxication canine aux noix moisies reçus au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	164
Figure 42 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	166
Figure 43 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	167
Figure 44 : Circonstances des intoxications canines supposées aux noix moisies lors des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	167
Figure 45 : Sexe des chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	169
Figure 46 : Gravité des symptômes chez les chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	170
Figure 47 : Délai d'apparition des symptômes lors de suspicions d'intoxications canines aux noix moisies rapportées au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	172
Figure 48 : Rôle de la réponse du CNITV dans le traitement administré aux chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	178

Figure 49 : Évolution des chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux noix moisis après l'appel reçu par le CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	178
Figure 50 : Motifs des appels reçus par le CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	179
Figure 51 : Délai entre l'apparition des signes cliniques des chiens suspects d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes et l'appel au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)	180
Figure 52 : Répartition mensuelle des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 (n=74 appels)	181
Figure 53 : Répartition mensuelle des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 en fonction du substrat ingéré (n=74 appels).....	182
Figure 54 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	184
Figure 55 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisis entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels).....	184
Figure 56 : Départements d'origine des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine au compost, bois et végétaux moisis ou par un substrat inconnu entre Février 2021 et Mars 2022 (n=27 appels).....	185
Figure 57 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	186
Figure 58 : Circonstances des intoxications suspectées aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	187
Figure 59 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux noix moisis entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels).....	187
Figure 60 : Circonstances des intoxications canines suspectées aux noix moisis lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels).....	188
Figure 61 : Sexe des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	189
Figure 62 : Âge des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)	190
Figure 63 : Gravité des symptômes chez les chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)	192
Figure 64 : Délai d'apparition des symptômes lors de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes rapportées au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels) ...	195
Figure 65 : Rôle de la réponse du CNITV dans le traitement à donner aux chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)	201
Figure 66 : Délai de récupération des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	203
Figure 67 : Fréquence de séquelles pour des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)	204
Figure 68 : Taux d'hospitalisation des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	205
Figure 69 : Durée d'hospitalisation des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	206
Figure 70 : Origine de la suspicion d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez des vétérinaires ayant contacté le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	215

Figure 71 : Analyse du contenu des vomissements de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	216
Figure 72 : Éléments de l'anamnèse indicateurs d'une probable consommation de mycotoxines trémorigènes par des chiens ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)	216
Figure 73 : Estimation de la fréquence de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une telle intoxication entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	219
Figure 74 : Connaissance des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)	220
Figure 75 : Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	221
Figure 76 : Connaissance de la toxicité des noix moisies par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	221
Figure 77 : Évaluation de la formation en école vétérinaire sur l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	222
Figure 78 : Origine de la connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes des vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=60 réponses).....	223
Figure 79 : Certitude des vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 au sujet de l'origine des symptômes de l'animal (n=65 appels).....	224
Figure 80 : Intérêt de la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique selon les vétérinaires lors de leur suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	225
Figure 81 : Répartition de la production française de noix en 2018 (FranceAgriMer, 2020)	236
Figure 82 : Méthode diagnostique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien (Source : MERKLING Axel)	272

Table des Tableaux

Tableau I : Les mycotoxines trémorigènes, associées à leurs moisissures sécrétrices et à leurs plus fréquents substrats de développement (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009; Evans and Gupta, 2018; Frisvad et al., 2004; Gallagher et al., 1980; Lheureux et al., 2018).....	57
Tableau II : Indoles diterpènes avec un cluster de gènes identifié dans une espèce de moisissure (Kozák et al., 2019; Ludlow et al., 2019)	69
Tableau III : Paramètres toxicocinétiques prédictifs du pénitrame A chez le chien, d'après les résultats d'une étude in vitro sur des microsomes hépatiques canins (d'après Uhlig et al., 2020)	79
Tableau IV : Présentation de 2 études rétrospectives menées dans 2 centres antipoison Français au sujet de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (d'après Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018).....	96
Tableau V : Race, sexe et âge des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes (d'après Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018)	97
Tableau VI : Fréquence des symptômes neuro-musculaires chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes.....	107
Tableau VII : Fréquence des troubles digestifs chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes	108
Tableau VIII : Fréquence des symptômes généraux chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes	110
Tableau IX : Fréquence des modifications comportementales chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes.....	111
Tableau X : Fréquence des mydriases et des mictions involontaires chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes.....	111
Tableau XI : logP de différentes molécules utilisées en médecine vétérinaire (issu de Parratt, 2015)	118
Tableau XII : Anti-convulsivants utilisables chez le chien (Barker et al., 2013; Berny and Queffélec, 2014; Peterson and Talcott, 2013; Waratuke, 2017)	120
Tableau XIII : Temps de survie en fonction de la dose de pénitrame A injectée par voie intrapéritonéale à des chiens expérimentalement intoxiqués (d'après Hayes et al., 1976)	124
Tableau XIV : Diagnostic différentiel des tremblements et des convulsions dans l'espèce canine (Adamczyk et al., 2016; Barker et al., 2013; Berny and Queffélec, 2014; Dugas, 2017; Peterson and Talcott, 2013)	131
Tableau XV : Matériel et réactifs nécessaires aux dosages quantitatifs des mycotoxines trémorigènes dans l'urine, pour le protocole analytique utilisé à Toxlab	155
Tableau XVI : Gamme d'étalonnage pour le dosage du pénitrame A et de la roquefortine C par LC-MS/MS à Toxlab	156
Tableau XVII : Effectif annuel et trimestriel des appels de suspicion d'intoxication canine aux noix moisies reçus au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	165
Tableau XVIII : Races des chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)	168
Tableau XIX : Toxiques présents dans les diagnostics différentiels des suspicions d'intoxications canines aux noix moisies recensées par le CNITV entre 2009 et 2019	171
Tableau XX : Fréquence des troubles neuro-musculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	173
Tableau XXI : Fréquence des troubles digestifs lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	174

Tableau XXII : Fréquence des altérations de l'état général lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	175
Tableau XXIII : Fréquence des symptômes oculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels).....	177
Tableau XXIV : Races des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	189
Tableau XXV : Nombre d'appels reçus par le CNITV pour des intoxications aux mycotoxines trémorigènes en fonction des classes d'âge des chiens ramenées à une durée d'un an	191
Tableau XXVI : Fréquence des troubles neuro-musculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	196
Tableau XXVII : Fréquence des troubles digestifs lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	197
Tableau XXVIII : Fréquence de l'altération de l'état général lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	198
Tableau XXIX : Fréquence des symptômes oculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels).....	200
Tableau XXX : Principales mesures thérapeutiques mises en place par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	207
Tableau XXXI : Anti-convulsivants utilisés par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	208
Tableau XXXII : Autres mesures thérapeutiques mises en place par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	210
Tableau XXXIII : Taux d'échec de diminution des troubles nerveux des traitements anti-convulsivants administrés pour des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022	214
Tableau XXXIV : Diagnostic différentiel de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes des vétérinaires ayant contacté le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022.....	217
Tableau XXXV : Raisons de présence ou d'absence d'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique selon les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels).....	225
Tableau XXXVI : Avis des vétérinaires sur la volonté des propriétaires dans la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique lors d'une suspicion d'intoxication de leur chien aux mycotoxines trémorigènes (n=68 précisions)	227
Tableau XXXVII : Origine des échantillons urinaires de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes analysés à Toxlab par LC-MS/MS	228
Tableau XXXVIII : Transport et résultat du dosage quantitatif du pénitrème A et de la roquefortine C par LC-MS/MS à Toxlab des échantillons urinaires de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes	230

Liste des abréviations

ACN : acétonitrile

ADN : acide désoxyribonucléique

ALAT : alanine aminotransférase

AMPA : acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique

ARN : acide ribonucléique

ASAT : aspartate aminotransférase

Aw : activité en eau

BK : canaux potassique calcium dépendants à grande conductance

CAPAE-Ouest : Centre Antipoison Animal et Environnemental de l'Ouest

CDA : Czapek–Dox Agar, gélose à base de saccharose comme seule source de carbone et de nitrate de sodium comme seule source d'azote

CNITV : Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires

CPK : créatinine phosphokinase

CRI : « Constant rate infusion » perfusion continue à débit constant

DL₅₀ : dose létale médiane

ELI : émulsions lipidiques intraveineuses

GABA : acide γ -aminobutyrique

HTD : hystidyltryptophanyldicétopipérazine

IM : voie intramusculaire

IV : voie intraveineuse

LC : chromatographie liquide

LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à une spectroscopie de masse en tandem

LDH : lactates déshydrogénases

LogP : logarithme du coefficient de partage d'un soluté

MEA : malt extract agar, gélose à l'extrait de malt

MS : spectroscopie de masse

MS/MS : spectroscopie de masse en tandem

NMDA : acide N-Méthyl-D-aspartique

P : coefficient de partage d'un soluté entre une phase composée d'eau et une phase composée d'octanol

PAL : phosphatases alcalines

PDA : potato dextrose agar, gélose à base de dextrose et d'infusion de pomme de terre

SIAMU : unité clinique spécialisée dans les urgences et les soins intensifs pour animaux de compagnie intégrée dans le centre hospitalier vétérinaire universitaire de VetAgro Sup

Toxlab : Laboratoire de toxicologie vétérinaire intégré au sein du campus vétérinaire de VetAgro Sup

UV : rayons ultraviolets

V-Tox® : base de données du CNITV

YES : yeast extract sucrose medium, gélose à base de levure et de saccharose

Introduction

La sécurité alimentaire des consommateurs est de nos jours fréquemment au cœur de nombreux scandales médiatiques impliquant des industriels du secteur agroalimentaire. Le risque lié à la consommation d'aliments s'explique par la potentielle présence de dangers biologiques, chimiques ou physiques au sein de ces derniers. L'intérêt porté à certains de ces dangers tels que certaines bactéries pathogènes, les pesticides ou encore les mycotoxines est donc en forte croissance de nos jours.

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires fongiques présentant une diversité de structure et d'action est très importante. Constituant initialement un système de défense pour leurs moisissures sécrétrices, certaines d'entre elles sont pathogènes pour l'homme comme pour de nombreuses espèces animales. En raison de leur régime alimentaire, les espèces de rentes telles que les bovins, les ovins et les porcins sont plus souvent exposées à ces molécules toxiques que les carnivores domestiques. Les méthodes analytiques permettant la détection de ces composés sont donc plus développées et disponibles pour les animaux de productions que pour les animaux de compagnie.

Les mycotoxines trémorigènes représentent un groupe de toxines fongiques à effet neurotoxique, capable d'induire des tremblements et des convulsions chez les individus les consommant par voie orale. Elles sont fréquemment retrouvées au sein d'aliments moisissus telles que les noix tombées au sol en décomposition. En raison du comportement alimentaire de l'espèce canine, réputée pour commettre des indiscretions alimentaires concernant des denrées se trouvant dans leur environnement, les chiens sont les animaux les plus souvent victimes de cette intoxication aigüe.

Les symptômes engendrés par la consommation de mycotoxines trémorigènes sont très peu spécifiques, le diagnostic d'une telle intoxication est donc complexe pour un vétérinaire. En raison de l'immense diversité et de la forte spécificité du domaine la toxicologie vétérinaire, au même titre qu'en médecine humaine, des structures spécialisées dans cette discipline ont vu le jour : les centres antipoison vétérinaires. De plus en raison de la médicalisation de plus en plus importante des animaux de compagnie et de la très forte augmentation de la prise en compte du bien-être animal, lors de contextes d'intoxications canines la demande de réalisation d'analyses toxicologiques de la part des propriétaires est de plus en plus fréquente de nos jours. De ce fait, la sollicitation des laboratoires de toxicologie vétérinaires est de plus en plus importante, de même que la liste des toxiques pouvant être détectés par analyse dans ces structures.

L'objectif principal de cette thèse est de proposer une démarche permettant de faciliter le diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes pour les vétérinaires praticiens.

Dans un premier temps une présentation des caractéristiques des mycotoxines trémorigènes et des informations relatives à l'intoxication canine à ce toxique, présentes dans la littérature scientifique, sera réalisée. Secondairement une étude rétrospective, prospective et analytique de suspicions d'intoxications de chiens à ces toxines fongiques, menée grâce aux données du Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires (CNITV) et aux capacités d'analyses du laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab, permettra de montrer les éléments anamnestiques, cliniques et épidémiologiques fréquemment mentionnés dans ce type de cas. De plus au cours de cette étude la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire, ainsi que les conséquences de l'intoxication pour les animaux et la gestion des chiens hospitalisés par les praticiens seront évaluées. Enfin la nouvelle méthode analytique de dosage quantitatif des mycotoxines trémorigènes dans l'urine des chiens intoxiqués, proposée par Toxlab et permettant un diagnostic de certitude de cette intoxication, sera présentée.

Partie I : Étude bibliographique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien

I) Présentation générale des mycotoxines trémorigènes et de leurs moisissures sécrétrices

A) Les moisissures productrices de mycotoxines trémorigènes

1) Définitions

1. Moisissures

Le terme moisissure fait souvent référence à l'aspect laineux ou duveteux et à la couleur verte ou blanche, que prennent certains champignons se développant sur des denrées alimentaires altérées. Plus précisément le mot moisissure est un nom commun fréquemment utilisé pour désigner de nombreuses espèces appartenant au règne des Fungi. Il ne représente donc pas un taxon distinct au sein de celui-ci. Ces espèces sont essentiellement constituées de champignons issus de deux groupes : les *Pezizomycotina* sous division du grand groupe des ascomycètes et les *Mucoromycotina* (Martin et al., 2020) dont la classification n'est pas encore entièrement déterminée (Hibbett et al., 2007). Les moisissures sont des organismes pluricellulaires quasiment tous microscopiques, possédant un thalle filamenteux formé d'hyphes, et pouvant se multiplier de manière sexuée et asexuée. Comme tous les champignons ce sont des êtres hétérotrophes, qui se nourrissent des nutriments présents dans leur milieu de vie par absorption.

Le métabolisme de ces champignons est très varié en fonction des différentes espèces, en effet grâce à une forte diversité enzymatique les moisissures sont capables d'utiliser un très grand nombre de nutriments différents. Cette grande richesse en diversité métabolique permet une synthèse de métabolites extrêmement variés par les moisissures. Ceux-ci sont en général classés en deux catégories. Les métabolites primaires sont indispensables au fonctionnement physiologique des cellules et permettent, entre autres, la croissance et le développement des organismes. La présence de ces molécules est d'ailleurs nécessaire pour la survie de ces derniers. Au contraire les métabolites secondaires ne sont pas requis pour la réalisation des grandes fonctions, néanmoins ils peuvent jouer un rôle écologique important car ils peuvent permettre des interactions plus ou moins fortes avec les autres organismes présents dans l'environnement des moisissures (Jaspard, 2021). Dans le cadre de l'évolution et de la sélection naturelle des êtres vivants, un métabolite secondaire donnant un avantage sélectif à l'être vivant qui le produit a plus de chance d'être sélectionné et conservé au fil des générations. Ceci explique que beaucoup de métabolites secondaires tels que les mycotoxines, qui constituent un moyen de défense pour l'organisme les synthétisant, sont présents chez les champignons.

2. Mycotoxines

Les mycotoxines peuvent être définies comme des molécules toxiques issues du métabolisme de certains champignons. Ce sont des métabolites secondaires, car elles ne sont pas nécessaires à la survie des moisissures. En effet au sein d'une même espèce de moisissure sont souvent recensées des souches toxigènes, sécrétant donc une mycotoxine spécifique, et d'autres atoxigènes, ne sécrétant donc pas cette même mycotoxine et pouvant pour autant parfaitement se développer dans

leur environnement. Cette différence de métabolisme d'origine génétique entre les moisissures permet certaines fois d'établir des classifications parmi ces dernières. De même une mycotoxine peut être synthétisée par différentes espèces de moisissures ce qui indique une voie métabolique identique dans le métabolisme secondaire de ces organismes et donc un probable lien phylogénétique plus ou moins ancien. Enfin les paramètres environnementaux influent également dans la synthèse des mycotoxines. Ainsi une même moisissure produisant une mycotoxine dans un environnement donné ne produira pas forcément cette toxine dans d'autres conditions environnementales en raison de la présence des facteurs abiotiques ou biotiques du milieu, potentiellement responsables de l'inhibition ou de l'activation des voies du métabolisme secondaire.

La limite entre une mycotoxine et un métabolite secondaire fongique non considéré comme tel est peu précise, mais le terme « mycotoxine » fait communément uniquement référence aux exotoxines. Les endotoxines synthétisées par les cellules des champignons mais non excrétées dans l'environnement sont donc généralement exclues de cette définition. De plus pour être considéré comme une toxine, ces molécules doivent exercer un effet toxique sur les autres êtres vivants du milieu. En fonction du type d'organisme sur lequel cet effet néfaste est observé, il est possible de classer les mycotoxines en trois catégories : les phytotoxines exerçant leur toxicité sur les végétaux, les zootoxines à l'origine des mycotoxicoses chez les animaux et les antibiotiques ayant un effet bactériostatique ou bactéricide sur les organismes bactériens.

Les toxines fongiques ne sont pas des composés de nature protéique, elles n'entraînent donc aucune réaction immunogène spécifique de la part des hôtes intoxiqués (Gauthier, 2016a). Autrement dit contrairement à des agents pathogènes tels que les virus ou les bactéries, une intoxication aux mycotoxines ne confère aucune protection à son hôte en cas de nouvelle contamination. Il est donc possible que des organismes soient victimes des effets d'une même toxine de moisissure à plusieurs reprises.

Les mycotoxines peuvent aussi être classées en fonction de leur potentiel pouvoir pathogène. Ainsi les phytotoxines et les zootoxines responsables respectivement de phytotoxinoses chez les espèces végétales et de mycotoxicoses chez les animaux consommés par l'homme, relèvent d'une grande importance dans le domaine de la santé publique. En effet les moisissures sont responsables de l'altération de beaucoup de denrées alimentaires et peuvent potentiellement causer des intoxications humaines ou animales lors de la consommation d'un de ces aliments altérés. Les antibiotiques eux soulèvent actuellement énormément de débats dans le domaine médical en raison de leur nécessité et du développement de résistances à ces molécules. Étant donné leur importance en santé publique, les effets des mycotoxines sur les végétaux et sur les animaux de rente consommant ces végétaux ont été largement étudiés. Au contraire leurs conséquences sur les animaux domestiques comme le chien ont fait l'objet de bien moins d'études en raison de leur plus faible exposition et de l'absence de risques associés pour l'homme. La littérature ne fait mention d'aucun cas de mycotoxicose chez le chat et de seulement 3 types mycotoxines ayant donné lieu à des intoxications aigües naturelles chez le chien, à savoir les aflatoxines, les pénitrèmes et les roquefortines (Puschner, 2002).

Les aflatoxines sont les mycotoxines qui ont été à ce jour à l'origine du plus grand nombre d'études dans la littérature. Ceci s'explique par le potentiel danger qu'elles représentent dans le domaine de la santé publique, étant donné qu'elles sont occasionnellement retrouvées dans beaucoup de denrées alimentaires (maïs, riz, noix, amandes, tourteaux d'arachides...), que des produits alimentaires d'origine animale peuvent être une source de ces molécules pour l'homme et en raison de leur toxicité. Les aflatoxines sont des métabolites secondaires produits par trois espèces de champignon *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nominus*. Leur toxicité est essentiellement hépatique suite à leur absorption intestinale et leur séquestration dans le foie. En effet celles-ci sont métabolisées en

époxydes qui réagissent avec les composants cellulaires (protéines, ADN (acide désoxyribonucléique), ARN (acide ribonucléique)...) des hépatocytes ce qui aboutit à leur nécrose. Une insuffisance hépatique, une stase biliaire et une fibrose hépatique sont les principales conséquences de cette intoxication aigüe. Chez le chien les symptômes d'aflatoxicoses sont donc les mêmes que ceux liés à une insuffisance hépatique, à savoir : signes digestifs (vomissements, anorexie, diarrhée), signes comportementaux (dépression, prostration, léthargie), et cardio-circulatoires (pétéchies, ictère, œdèmes). Le traitement de cette intoxication est uniquement symptomatique et la mort des chiens intoxiqués n'est pas rare, les chances de survie sont majoritairement dépendantes de l'état des dommages hépatiques lors de la prise en charge, plus ils sont importants moins les chances de survie sont élevées (Puschner, 2002). Enfin les aflatoxines sont reconnues comme génotoxiques et cancérigènes chez l'homme, par conséquent celles-ci sont fortement étudiées et contrôlées dans le domaine de l'alimentation (Chain (CONTAM) et al., 2020).

Les aflatoxines ne sont pas l'objet de cette thèse car leur toxicité aigüe n'est pas majoritairement nerveuse, par la suite nous nous focaliserons uniquement sur les mycotoxines trémorigènes responsables de troubles nerveux chez les chiens lors de leur consommation. Néanmoins il est tout aussi important pour un clinicien de garder en mémoire la possibilité d'une intoxication aux aflatoxines lors de l'ingestion de denrées alimentaires altérées par un chien.

2) Les moisissures synthétisant les mycotoxines trémorigènes

1. Classes, familles

A l'heure actuelle des moisissures issues de seulement quatre genres sont reconnues comme capables de produire des mycotoxines trémorigènes, au sein de leur métabolites secondaires. Ce sont les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Claviceps*, et *Neotyphodium*. Une vingtaine de mycotoxines ont démontré un potentiel trémorigène chez l'animal où l'homme (Evans and Gupta, 2018).

Ce travail se focalise sur l'intoxication du chien aux mycotoxines trémorigènes, aussi par la suite nous nous concentrerons essentiellement sur les mycotoxines responsables de ces intoxications dans l'espèce canine, à savoir le pénitrem A et la roquefortine C, et sur les espèces de moisissures ayant permis leur synthèse. En effet un grand nombre de mycotoxines trémorigènes sont synthétisées par des moisissures détériorant des fourrages, qui ne sont pas naturellement consommés sans transformation préalable par l'espèce canine. Les espèces de champignons capables de synthétiser du pénitrem A et de la roquefortine C appartiennent au genre *Penicillium*.

La responsabilité du pénitrem A dans l'apparition de troubles neuro-musculaires chez le chien a déjà été démontrée dans différentes publications (Boysen et al., 2002; Eriksen et al., 2010; Hocking et al., 1988; J.S. Munday et al., 2008; Naudé et al., 2002; Richard et al., 1981; Richard and Arp, 1979; Tiwary et al., 2009; Walter, 2002; Young et al., 2003). *Penicillium crustosum* est l'espèce la plus souvent impliquée dans la synthèse de pénitrem A, c'est un champignon très fréquemment acteur de l'altération des denrées alimentaires et à répartition mondiale. Plusieurs autres espèces de *Penicillium* sont également capables de synthétiser du pénitrem A dont notamment : *Penicillium carneum*, *Penicillium clavigerum*, *Penicillium flavigenum*, *Penicillium glandicola*, *Penicillium melanoconidium* and *Penicillium tulipae* (Frisvad et al., 2004).

La roquefortine C a elle aussi été détectée après analyse dans des cas d'intoxications canines avec présence de troubles nerveux (Boysen et al., 2002; Eriksen et al., 2010; Lowes et al., 1992; Naudé et al., 2002; Puls and Ladyman, 1988; Tiwary et al., 2009; Walter, 2002; Young et al., 2003). Il existe 4

types de roquefortines : A, B, C et D, mais la C est la plus fréquemment sécrétée. Elle est synthétisée par plus de 25 espèces de *Penicillium* (Frisvad et al., 2004), dont notamment *Penicillium roqueforti* capable d'une forte production de ce métabolite secondaire, et *Penicillium crustosum* plutôt en raison de la très fréquente et forte présence de cette moisissure dans les aliments moisissés. Comme le montre l'exemple de *Penicillium crustosum*, plusieurs espèces du genre *Penicillium* sont capables de synthétiser à la fois du pénitrème A et de la roquefortine C.

2. Importance, présence dans l'environnement

Les champignons sécrétant des mycotoxines trémorigènes se développent naturellement dans l'environnement sur des denrées alimentaires telles que des céréales ou les fruits à coque et sont en partie responsables de leur altération. On parle alors communément « d'aliments moisissés ». En alimentation humaine, ils sont notamment responsables de l'altération des produits laitiers tels que les fromages, la crème ou les yaourts (Martin et al., 2020), des produits transformés à partir de céréales dont notamment le pain, et sur les fruits à coque comme les noix. De plus ces moisissures se développent souvent sur des tas de compost ou sur des fourrages destinés à la ration des animaux de rente.

Dans le cas des carnivores domestiques et en particulier du chien, la plupart d'entre eux sont de nos jours nourris avec une alimentation industrielle et sèche. Si celle-ci est conservée dans de bonnes conditions, c'est-à-dire à l'abri de l'air, de l'humidité et non trop longtemps après la date de péremption ou après ouverture, elle n'est normalement pas propice à une contamination par des moisissures. Cependant le risque de consommation d'un aliment moisi par un chien reste toujours possible en raison de la probable consommation de denrées alimentaires présentes dans l'environnement. En effet de nos jours la présence de noix moisissées ou de compost est fréquente dans les jardins domestiques et de nombreux chiens au caractère glouton ou curieux sont susceptibles de les consommer. De plus il arrive que des propriétaires ne désirant plus consommer une denrée qu'ils jugent trop altérée pour eux décident de la donner à leurs animaux, ce qui peut potentiellement être à l'origine d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Enfin la présence de diverses espèces de *Penicillium* en concentration importante, associée ou non à la présence de roquefortine C et de pénitrème A, dans les déchets alimentaires de foyers privés a déjà été expérimentalement démontrée (Rundberget et al., 2004). Il est donc tout à fait envisageable qu'un chien puisse s'intoxiquer en fouillant dans une poubelle et en ingérant une partie de son contenu. D'autant plus que pour certains produits alimentaires très fréquemment présents dans nos déchets tels que le pain, il est impossible d'empêcher leur dégradation par des moisissures sécrétrices de mycotoxines au bout d'un certain temps (Karami et al., 2014).

3) Développement des moisissures et sécrétion de mycotoxines trémorigènes

1. Facteurs environnementaux de la croissance mycélienne et de la synthèse de mycotoxines chez différentes espèces de moisissures

De même que tous les autres micro-organismes la croissance des moisissures dépend de certains paramètres de leur milieu de vie.

a) L'Activité en eau (Aw)

L'Aw d'un aliment correspond au rapport de la pression partielle de l'eau dans l'aliment à une température donnée, sur la pression partielle de l'eau pure à la même température, ce paramètre est donc intimement lié à la température du milieu. Elle représente la quantité d'eau disponible pour le développement d'un micro-organisme dans un solide ou un liquide (Gauthier, 2016). Plus précisément l'Aw correspond à la quantité d'eau présente dans un produit et pouvant potentiellement être utilisée par un micro-organisme pour la réalisation des réactions chimiques nécessaires à sa croissance. Sa valeur varie de 0, lorsque toute l'eau est retenue dans le produit, à 1 pour l'eau pure. De ce fait plus l'Aw d'un aliment est grande plus il y a d'eau disponible pour la croissance des micro-organismes dans celui-ci. La croissance de toutes les moisissures est caractérisée par un Aw minimum, optimum et maximum.

Par rapport aux bactéries et aux levures, la plupart des moisissures ont une plus grande xérotolérance, c'est-à-dire qu'elles peuvent se développer à des Aw plus basses que ces dernières. Effectivement la majorité des moisissures sont considérées comme mésophiles car elles peuvent se développer dans des denrées alimentaires avec une Aw entre 0,85 et 0,99. Globalement plus l'Aw d'un substrat est importante et plus la contamination bactérienne du produit est facilitée, les bactéries étant majoritairement hygrophiles. En conséquence dans un aliment avec une Aw élevée une compétition pour le substrat peut apparaître entre les bactéries et les moisissures et ainsi limiter le développement des champignons au profit de celui des bactéries (cité par Lheureux et al., 2018). Au contraire plus l'Aw est basse dans un produit moins les bactéries sont capables de s'y multiplier, les moisissures plus xérotolérantes sont donc souvent responsables de l'altération de denrées alimentaires avec une faible teneur en eau disponible (confitures, fruits secs, céréales, charcuteries...).

Concernant les champignons sécréteurs de mycotoxines trémorigènes, certaines espèces des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont même la capacité de croître dans des denrées avec une Aw jusqu'à 0,7 (à 25°C). Ce sont des espèces de moisissures fortement xérophiles, elles sont couramment dénommées « moisissures de stockage » car leur développement est facilité sur les denrées sèches par manque de compétition avec les autres micro-organismes. Au contraire les espèces du genre *Fusarium* sont des moisissures hygrophiles qui ne se développent que dans des aliments avec une Aw supérieure à 0,9, ce sont des « moisissures de champs » qui affectent souvent les végétaux humides lorsqu'ils sont encore au champ (Gauthier, 2016a; Tabuc, 2007).

Enfin, l'Aw minimale nécessaire à la croissance d'une moisissure est inférieure à l'Aw minimale nécessaire à la mycotoxinogénèse, ceci explique qu'une altération d'un aliment par une moisissure peut se faire avec ou sans une synthèse de mycotoxines associée (Gauthier, 2016a).

b) La température

La température du milieu est un déterminant majeur du développement des moisissures. Très liée à l'Aw, elle a comme point commun avec cette dernière qu'il existe pour chaque espèce de champignon une température minimale, optimale et maximale pour sa croissance et que l'intervalle de température permettant la toxino-génèse est plus restreint que celui permettant le développement mycélien. De plus la température optimale de croissance d'une espèce de champignon donnée n'est généralement pas celle permettant la plus grande production de mycotoxines (Gauthier, 2016a). Ceci pourrait en partie s'expliquer par le fait que les mycotoxines constituent un moyen de défense pour le

champignon et que ces mécanismes de survie seraient plus actifs lorsque le champignon n'est pas dans des conditions environnementales optimales. Dans de telles circonstances n'ayant nul besoin de se défendre, la synthèse de mycotoxines pourrait alors apparaître comme une dépense d'énergie inutile.

Il est possible de classer les différentes espèces de moisissures en 3 groupes selon leur température optimale de croissance (Gauthier, 2016) :

-Les espèces psychrophiles (ou cryophiles) : ce sont des moisissures se développant préférentiellement à des températures basses entre 5 à 10 degrés, voire même capables de croître à des températures inférieures à 4 degrés ou négatives comme c'est le cas pour l'espèce *Cladosporium herbarum* (Gauthier, 2016). Elles peuvent donc être responsables de l'altération de denrées réfrigérées.

-Les espèces mésophiles : Ce groupe comprend l'essentiel des espèces de champignons. En effet la grande majorité des moisissures possède une température optimale de croissance entre 20 et 25°C, une température minimale de croissance aux alentours de 5°C et une température maximale de croissance proche de 35°C. Certains sous-groupes peuvent être formés au sein des moisissures mésophiles avec des intervalles de croissance légèrement différents. On peut notamment citer les moisissures thermotolérantes dont l'optimum de croissance se situe bien entre 20 et 25°C mais qui sont toujours capables de survivre à des températures plus élevées que 35°C (Lheureux et al., 2018).

-Les espèces thermophiles : ces espèces sont peu nombreuses, elles ont une température optimale de croissance supérieure à 25 °C et sont capables de croître à des températures très élevées, jusqu'à 50°C pour *Aspergillus Flavus* (Gauthier, 2016a; Tabuc, 2007).

A l'exception de quelques espèces, les moisissures ne sont pas thermorésistantes, autrement dit les spores et les hyphes la constituant sont détruits par un traitement thermique telle qu'une pasteurisation ou la plupart des modes de cuisson (Gauthier, 2016a).

La Figure 1, ci-dessous, permet de montrer l'influence très importante que peuvent représenter la température et l'activité en eau sur la croissance des moisissures :

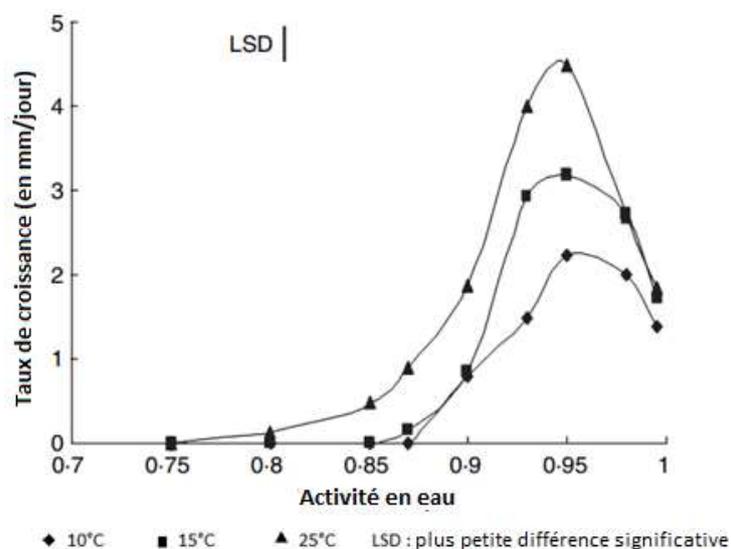


Figure 1 : Effet de la température et de l'activité en eau sur le taux de croissance de la moisissure *Penicillium verrucosum* cultivée sur des cellules de grain de blé (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)

c) Le pH

Le pH permet de quantifier la concentration en ion hydrogène (H^+) du milieu, sa valeur permet de distinguer les milieux acides ($pH < 7$), des milieux neutres ($pH = 7$) et des milieux basiques ($pH > 7$).

Les moisissures sont capables de croître dans de larges gammes de pH, celui-ci pouvant varier de 3 à 8. De même que pour les deux paramètres abiotiques précédents il existe un intervalle de pH pour lequel la croissance de la majorité des moisissures est optimale, ce développement maximal s'observe dans des milieux où le pH se situe entre 5 et 6. Une étude datant 1997 a mis en évidence cet aspect en démontrant que la croissance optimale de l'espèce de champignon *Fusarium proliferatum* était obtenue lorsque le champignon se développait dans un substrat à pH 5.6 (Keller et al., 1997). Une fois encore cet optimum de croissance ne correspondait pas à celui permettant la plus grande production de mycotoxines, car, comme le montre la Figure 2 ci-dessous, le pH correspondant à l'optimum de production de fumosines B1 par *Fusarium proliferatum* se situe aux alentours de 3,4 (Keller et al., 1997).

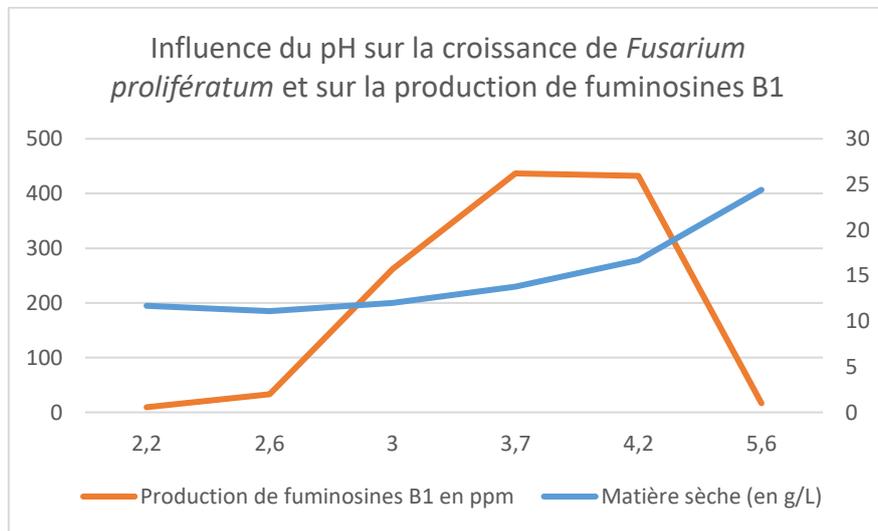


Figure 2 : Influence du pH sur la croissance de *Fusarium proliferatum* et sur la production de fumosine B1 (d'après Keller et al., 1997)

De même que pour l'Aw, des aliments acides ayant naturellement un pH inférieur à 6, tels que certains fruits ou légumes, sont peu propices à une altération bactérienne et sont donc souvent victimes d'une dégradation fongique (Fangeat, 2008; Gauthier, 2016a; Tabuc, 2007).

d) La composition atmosphérique

Les moisissures sont des organismes aérobies, qui nécessitent de l'oxygène dans leur environnement pour assurer leur croissance. Cependant la majorité d'entre elles nécessite une teneur en dioxygène bien plus basse que celle de l'atmosphère terrestre composée à 21 % d'O₂. En effet, l'espèce *Aspergillus flavus* est par exemple peu sensible à la composition en dioxygène du milieu, cette moisissure est même capable de croître dans une atmosphère avec une concentration d'O₂ de 0,5 % (Fangeat, 2008; Tabuc, 2007). La croissance mycélienne n'est cependant pas uniquement dépendante

de la composition en dioxygène de l'air ambiant, la présence d'autres gaz peut aussi y influencer. De même que pour l'O₂, *Aspergillus Flavus* est peu sensible à la composition en diazote de l'atmosphère, ce champignon peut croître dans un milieu contenant jusqu'à 99 % de N₂, en revanche il est plus sensible à la composition en dioxyde de carbone dans l'air ambiant, car si celle-ci dépasse 80 % sa croissance est inhibée (Fangeat, 2008; Tabuc, 2007).

Toute espèce de moisissure est capable de se développer dans des conditions atmosphériques qui lui sont propres, chacune possède ainsi des facteurs déterminants de composition de l'atmosphère qui limitent sa croissance. Comme dans le cas d'*Aspergillus flavus* ou d'*Aspergillus ochraceus*, pour *Penicillium verrucosum* un de ces facteurs est la composition en CO₂ de l'air environnant. Effectivement, comme le montre la Figure 3, il a été expérimentalement prouvé qu'avec des atmosphères composées à 25 et 50 % de CO₂ la croissance de ce champignon était respectivement diminuée de 40 et 75 % par rapport à une croissance dans l'atmosphère terrestre (avec une Aw de 0,95) (Cairns-Fuller et al., 2005).

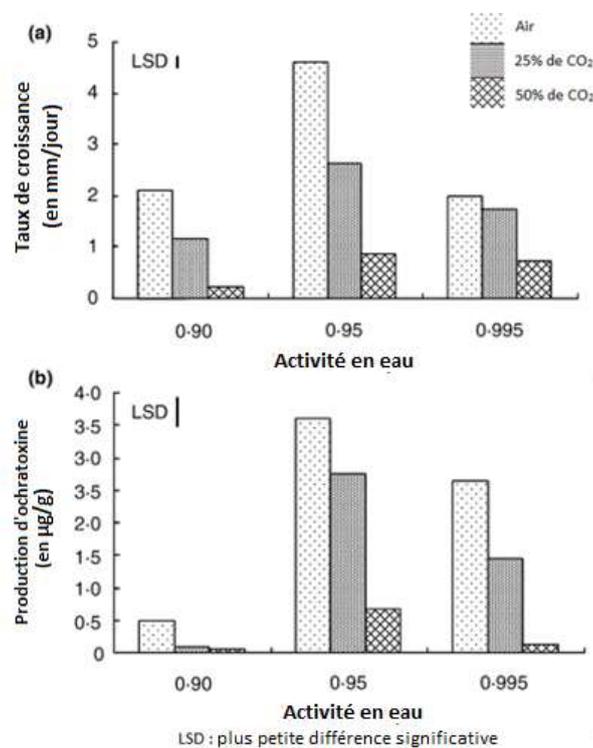


Figure 3: Effet de l'activité en eau et de la composition en CO₂ atmosphérique sur la croissance de *Penicillium verrucosum* et sa production d'ochratoxine (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)

D'autres espèces bien plus rares sont capables de croître en anaérobiose, c'est notamment le cas de *Byssochlamys nivea* qui se développe parfois dans des fourrages et est alors à l'origine de la sécrétion de patuline, une mycotoxine potentiellement pathogène (Escoula and Henry, 1975).

Selon l'espèce de moisissure et la mycotoxine considérée, la composition de l'atmosphère peut aussi influencer sur la production de toxines. En effet, Il a été expérimentalement démontré qu'une restriction en dioxygène diminuait la production de fumosines B1 par, l'espèce *Fusarium proliferatum*, au point de les rendre indétectables par analyse (Keller et al., 1997). De même pour *Penicillium verrucosum*, la Figure 3 montre que pour les 3 valeurs d'Aw testées, la production d'ochratoxine était diminuée de plus de 75 % dans une atmosphère contenant 50 % de CO₂ par rapport à une atmosphère terrestre (Cairns-Fuller et al., 2005).

e) La lumière

L'exposition des moisissures à la lumière naturelle semblerait favoriser la germination des spores et donc la dissémination des champignons (Gauthier, 2016a). De manière générale la croissance mycélienne des moisissures n'est pas très modifiée en présence ou en absence de lumière naturelle. Cependant certaines espèces ne se développent qu'en milieux obscurs (grottes, caves...), et au contraire d'autres champignons ne sont retrouvés que dans des lieux fréquemment ensoleillés (adrets, déserts...) (Tabuc, 2007).

f) Nature du substrat

Les champignons sont des êtres hétérotrophes, ils sont donc dépendants des nutriments présents dans leur milieu extérieur. Ces microorganismes se nourrissent par absorbotrophie, la présence d'une paroi rigide autour des cellules fongiques rendant impossible la réalisation de phagocytose comme moyen d'absorption des nutriments. Les cellules des moisissures pallient à cette contrainte en sécrétant des enzymes dans leur milieu : les dépolymérasés. Celles-ci dépolymérisent les composés extérieurs en nutriments (acides aminés, acides gras, monosaccharides...) assez petits pour être absorbés à travers la paroi et la membrane cellulaire. Les moisissures ne peuvent donc se développer que sur un substrat leur fournissant des nutriments comme source d'énergie, ce qui correspond à des milieux organiques. Il est possible d'observer un développement de celles-ci sur un milieu inorganique (métaux, matière minérale, plastique...), mais uniquement lorsque des résidus de matières organiques sont présents sur ces surfaces et que les conditions environnementales le permettent (Gauthier, 2016a).

La capacité de croissance d'un champignon dépend de la richesse et de la diversité en nutriments du milieu. De manière générale plus celui-ci est riche en nutriment, plus la croissance est aisée. Cependant les moisissures sont réputées pour être opportunistes et capables de croître dans des conditions difficiles par rapport à d'autres micro-organismes, certaines espèces pouvant effectivement se développer dans des milieux relativement pauvres.

La toxinogénèse est elle aussi très dépendante des éléments chimiques du milieu, en effet certains constituants peuvent favoriser la synthèse de mycotoxine par leur présence. Ceci est notamment valable pour certains acides aminés comme la proline qui peut augmenter la production d'aflatoxine par des espèces du genre *Aspergillus* (Payne and Hagler, 1983). Au contraire l'acide phytique, souvent en grande concentration dans les céréales, diminue cette synthèse (Gauthier, 2016a).

g) Les substances chimiques exogènes du milieu

Certains substrats alimentaires peuvent être amenés à subir un traitement avec des molécules exogènes (pesticide, engrais de croissance, fongicide...) afin d'augmenter leur production ou d'éviter une altération par des parasites. Les fongicides ont pour but d'inhiber la croissance mycélienne, voire de détruire les cellules fongiques. Leurs effets sur la toxinogénèse sont cependant variables, il a notamment été démontré que l'acide propionique utilisé à des doses sub-létales pour son effet fongicide pouvait augmenter la production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* (al-Hilli and Smith, 1992). De plus l'efficacité d'un anti fongique sur une espèce donnée de champignon peut être soumise à des variations car des phénomènes de résistance aux traitements fongicides sont désormais

fréquemment décrits en agriculture, ainsi que lors de traitements de mycoses animales ou végétales. Ceux-ci sont parfois anciens, ainsi des résistances aux traitements azolés par l'espèce *Aspergillus fumigatus* sont décrites depuis le début des années 2000 (Guegan and Gangneux, 2017).

h) La compétition entre micro-organismes

La présence de divers types de micro-organismes (champignons, bactéries, protozoaires...) dans un même milieu crée naturellement une compétition pour les nutriments disponibles dans celui-ci, à condition que ces substances soient nécessaires au développement de ces différents êtres vivants. En plus de cette concurrence entre microorganismes, la présence d'une moisissure peut affecter la toxino-génèse d'une autre espèce. En effet, il a été démontré que la quantité d'ochratoxines sécrétées par *Aspergillus ochraceus* était significativement diminuée en présence d'*Aspergillus flavus* dans le même milieu. En revanche dans ces mêmes conditions expérimentales, la quantité d'aflatoxines synthétisée par ces 2 espèces était accrue. Ces modifications ont été suspectées d'être liées à l'utilisation de la phénylalanine par *Aspergillus flavus* pour ses propres biosynthèses, cet acide aminé aurait donc été moins disponible dans le substrat. Or cette molécule est également un précurseur nécessaire à la synthèse d'ochratoxines ce qui a sûrement impacté négativement leur production (cité par Gauthier, 2016a).

Étant donné leur dépendance vis-à-vis du milieu extérieur, il est important de signaler que toutes les moisissures ne peuvent pas se développer sur un substrat précis. Au contraire l'altération d'un type de matière organique ou d'un aliment donné n'est possible que par un nombre restreint d'espèces de moisissures (Filtenborg et al., 1996), en raison des facteurs abiotiques du milieu de conservation du produit (température, humidité, luminosité, composition atmosphérique...) et des paramètres physico-chimiques du substrat (pH, Aw, nutriments présents...). Il est donc possible de nos jours, grâce à l'étude expérimentale de l'altération de nombreux aliments et en particulier des fourrages, de recenser un grand nombre d'espèces de moisissures susceptibles d'altérer un type d'aliment précis à un certain moment de sa production. Cela a surtout été étudié pour les fourrages destinés aux animaux de rentes où l'on distingue les moisissures de champs altérant diverses espèces végétales lorsqu'elles sont encore dans les cultures, des moisissures de stockage se développant lors de la phase de conservation de ces aliments.

Tous les paramètres précédemment cités influent sur la croissance mycélienne et la toxino-génèse des moisissures. En combinant les limites imposées par chacun de ces facteurs au développement des moisissures, il est possible de définir pour chaque espèce de champignon un ensemble de conditions environnementales rendant possible sa croissance. Celui-ci correspond à l'intersection des intervalles formés par les limites maximales et minimales de ces paramètres. Le même travail peut être effectué sur la production de chaque mycotoxine par un champignon spécifique. En ne tenant compte que de deux de ces paramètres, il est possible d'obtenir une représentation en deux dimensions des conditions environnementales nécessaires à la croissance d'une espèce ou à sa toxino-génèse. À titre d'exemple la Figure 4 ci-dessous présente les conditions de température et d'Aw permettant la croissance de *Penicillium verrucosum* et sa production d'ochratoxine A.

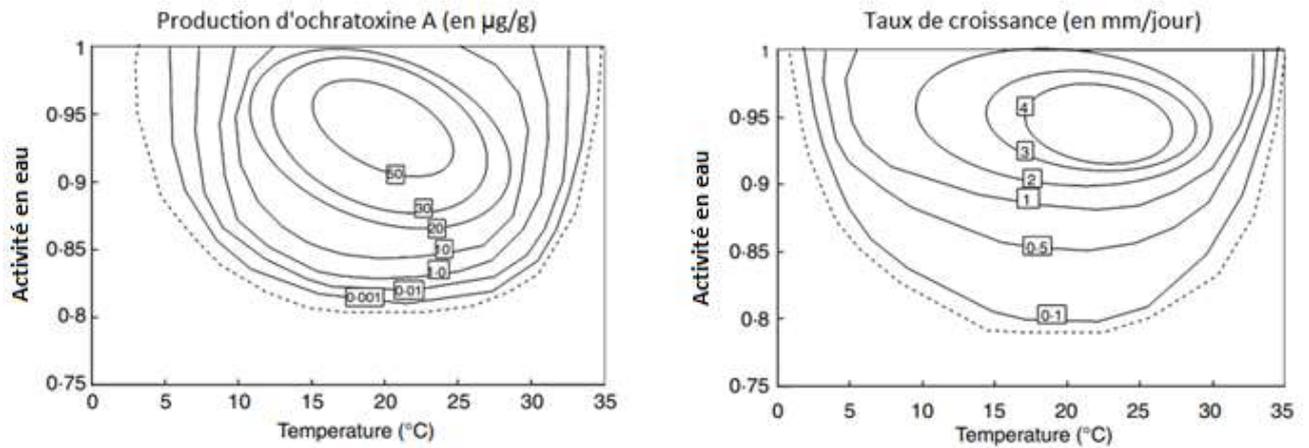


Figure 4 : Effets de la température et de l'activité en eau sur la croissance de *Penicillium verrucosum* et sur sa production d'ochratoxine A (d'après Cairns-Fuller et al., 2005)

La Figure 4 illustre également bien que les conditions environnementales permettant la meilleure croissance de la moisissure ne correspondent pas forcément et exactement à celles permettant la meilleure toxinogénèse. Cela a pour conséquence qu'un aliment peut être altéré de façon importante par des moisissures sans que des mycotoxines ne soient nécessairement produites. Au contraire une faible altération d'un aliment, potentiellement invisible à l'œil nu, n'exclut pas la présence de mycotoxines dans celui-ci. Cet aspect est montré sur la Figure 5 ci-après, où toutes les combinaisons de température et d'Aw se situant dans la zone grisée permettent la croissance d'une espèce *Aspergillus*, mais ne rendent pas possible la synthèse d'aflatoxine par celle-ci.

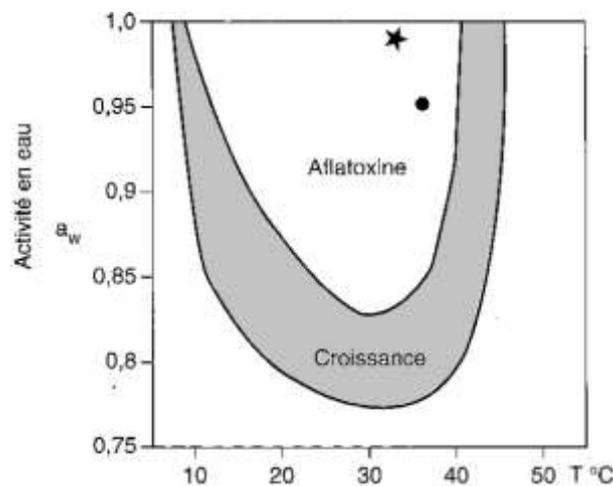


Figure 5 : Effets de la température et de l'activité en eau sur la croissance d'une espèce d'*Aspergillus* et sur sa production d'ochratoxine A (issu de Fangeat, 2008)

De même les moisissures du genre *Fusarium* ont une croissance optimale entre 25 et 30°C avec une faible production de mycotoxines associée, en revanche à des températures proches de 0°C une faible croissance accompagnée d'une forte toxinogénèse est observée (Whitlow and Hagler, 2008).

Enfin certaines mycotoxines sont produites par plusieurs espèces de champignons. Il ne serait pas inconcevable que les conditions environnementales permettant leur synthèse optimale soient identiques indépendamment de la moisissure productrice. Cependant ceci n'est pas systématiquement observé lors d'expérimentations. Ainsi une étude datant de 2019 a démontré que deux espèces d'*Aspergillus* productrices d'ochratoxine A (*Aspergillus fresenii* et *sulphureus*) cultivées sur un même substrat, avaient les mêmes besoins en température et en Aw pour assurer leurs croissances, mais nécessitaient chacune des conditions environnementales différentes afin de parvenir à leurs synthèses maximales d'ochratoxine A (Gizachew et al., 2019).

De nombreux paramètres environnementaux influent donc sur la croissance mycélienne et la synthèse des mycotoxines. Expérimentalement la prise en compte de tous ces facteurs biotiques et abiotiques est impossible. Néanmoins l'étude de quelques-uns seulement permet la détermination de conditions favorables ou non au développement des champignons où à leur toxino-génèse.

2. Les particularités du développement des moisissures sécrétrices de mycotoxines trémorigènes responsables d'intoxications chez le chien

Les mycotoxines trémorigènes les plus souvent incriminées dans les intoxications des carnivores domestiques sont le pénitrem A et la roquefortine C, synthétisés en majorité par *Penicillium crustosum* et *Penicillium roqueforti*. L'étude de l'influence des facteurs environnementaux sur la production spécifique des mycotoxines trémorigènes, se focalisera donc sur le développement de ces 2 espèces de moisissures et sur la synthèse de ces 2 métabolites.

a) Particularités du développement de *Penicillium crustosum* et *Penicillium roqueforti*

Les résultats de deux études témoignant des conditions environnementales favorables au développement de *Penicillium roqueforti* et *Penicillium crustosum* sont présentés dans cette partie :

Selon la première de ces 2 études datant de 2003, les 3 paramètres influant le plus sur la croissance des champignons xérophiles et sur leur capacité à altérer des aliments sont : la température du milieu, le pH et l'Aw du substrat (Gock et al., 2003). Cette étude avait pour but d'étudier l'effet combiné de ces 3 facteurs sur la germination et la croissance de moisissures capables de croître en milieu relativement pauvre en eau et souvent responsables de l'altération d'aliments, dont *Penicillium roqueforti* bien qu'elle ne soit pas une espèce considérée comme fortement xérophile car elle n'est pas capable de se développer à des Aw inférieures à 0,8. Les résultats de cette étude présentés sur la Figure 6, ont montré que sa croissance était meilleure à 25°C qu'à 30°C, qu'à 25 comme 30 degrés le taux de croissance était de plus en plus important avec un Aw croissante, suggérant une Aw optimale pour la croissance supérieure à 0,92. De plus il a été montré que l'influence du pH sur la croissance mycélienne était moindre avec une Aw basse (< 0,86) qu'avec des Aw supérieures (> 0,89) et ce peu importe la température. Le pH testé le plus optimal à la croissance de *Penicillium roqueforti* était de 5,5 avec une Aw à 0,92, en revanche avec une Aw inférieure ou égale à 0,89 aucune différence significative du taux de croissance n'est observée entre les différents pH testés. En ce qui concerne l'Aw minimale permettant le développement de *Penicillium roqueforti*, il a été démontré que celle-ci

est de 0,82 à 25°C, et de 0,86 à 30 °C. Enfin à 37°C la culture du champignon n'a pas été possible à l'Aw maximale testée dans cette étude qui était de 0,92 (Gock et al., 2003).

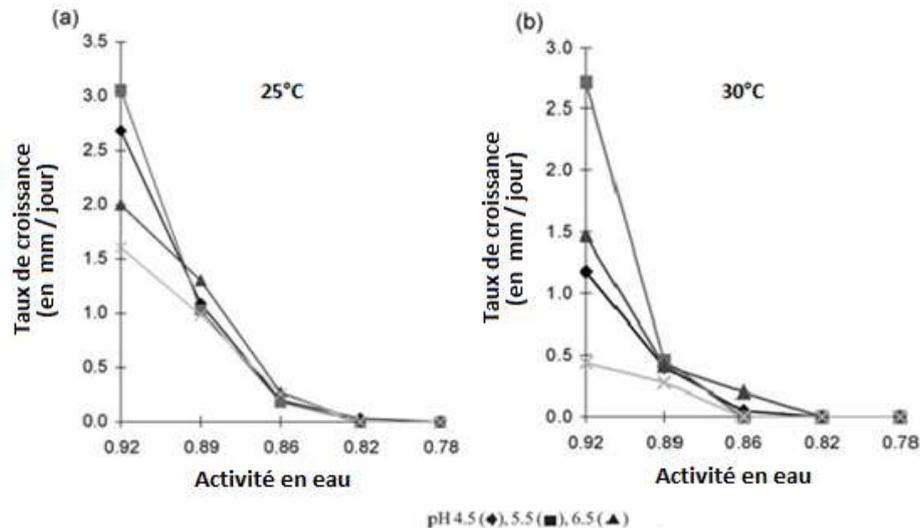


Figure 6 : Influence du pH, de la température et de l'activité en eau sur la croissance de *Penicillium roqueforti* (d'après Gock et al., 2003)

Ces résultats ont démontré une fois de plus que la croissance d'un champignon n'est possible que selon une combinaison de paramètres interdépendants. De plus il semblait relativement complexe de prévoir toutes les situations où celle-ci serait possible car un seul de ces facteurs pouvait, à lui seul inhiber, totalement le développement d'une moisissure. Enfin cette étude met particulièrement en valeur que les limites d'un paramètre abiotique donné permettant la croissance d'une espèce ne sont donc pas fixes mais dépendantes des autres facteurs du milieu.

La seconde étude menée par Camardo et ses collaborateurs en 2017 avait pour objectif d'étudier les besoins de différentes moisissures souvent responsables de l'altération des fromages, dont *Penicillium roqueforti* et *Penicillium crustosum*, et dans un second temps de réaliser un modèle de prédiction de contamination des fromages par les mycotoxines. L'étude consistait essentiellement à l'analyse de la croissance mycélienne et de la production de mycotoxines par différentes espèces de champignons sous différents températures (de 0 à 40°C avec un palier de 5°C entre les différentes expériences successives) et Aw (Aw entre 0,86 et 0,99 avec un palier de 0,03 entre deux expérimentations différentes) (Camardo Leggieri et al., 2017).

Les résultats ont montré que : la meilleure croissance a été obtenue à une température 25°C pour *Penicillium roqueforti* et *Penicillium crustosum*. Le développement de ces 2 champignons n'a été possible qu'entre 5 °C et 35°C, suggérant que leur température minimale de croissance se situe entre 0 et 5 degrés et leur température maximale de croissance entre 35 et 40 degrés. L'Aw optimale était également la même pour ces deux espèces avec une valeur de 0,99. En revanche l'Aw minimale testée permettant un développement mycélien était de 0,87 pour *Penicillium roqueforti* et de 0,90 pour *Penicillium crustosum* à 20°C. Les taux de croissance relatifs de ces moisissures en fonction de la température et de l'Aw ont été déterminés dans cette étude, et sont présentés sur la Figure 7, ci-dessous :

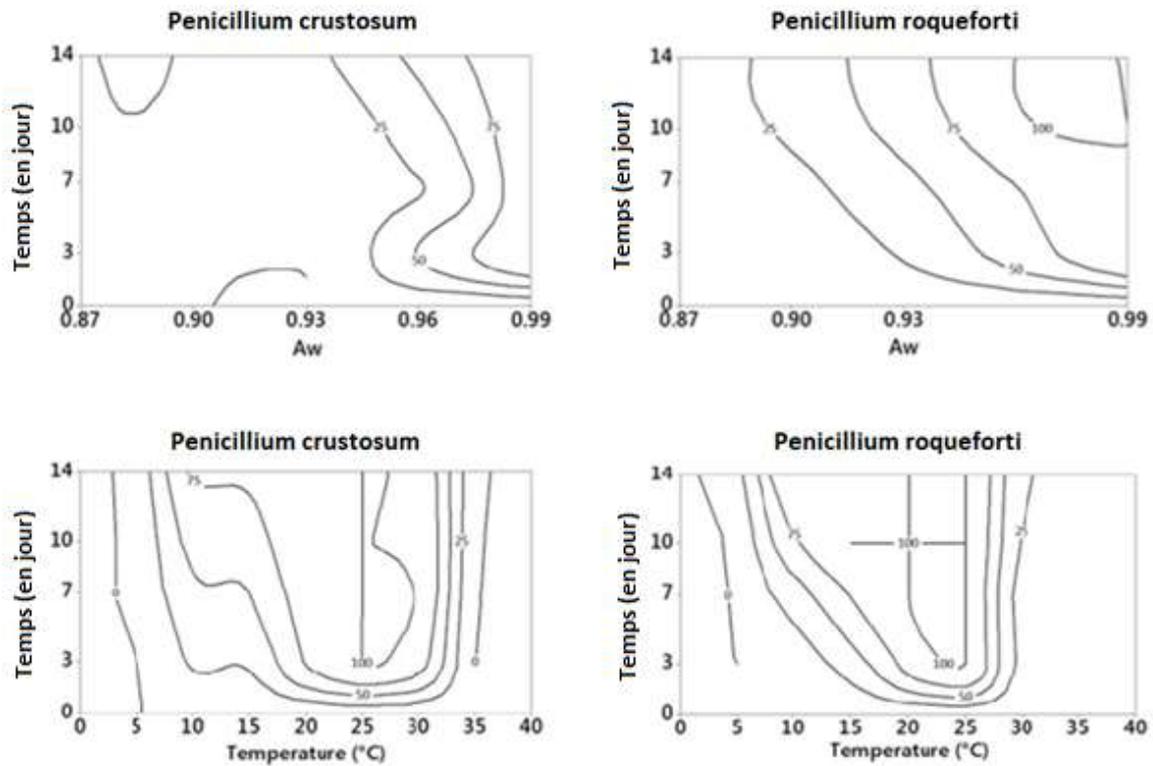


Figure 7 : Taux de croissance relatifs de *Penicillium crustosum* et *Penicillium roqueforti* en fonction de l'Aw (à 20°C), et de la température (avec une Aw= 0,99) (d'après Camardo Leggieri et al., 2017)

De plus, pour pallier à une impossibilité matérielle de réaliser toutes les conditions environnementales envisageables dans la nature, une modélisation de l'influence des paramètres environnementaux sur la croissance mycélienne a été mise au point au cours de cette étude. À partir d'équations et de leurs résultats expérimentaux, les auteurs sont parvenus à proposer un modèle précisant les conditions de température et d'Aw permettant la croissance des diverses espèces de champignons. Les résultats de cette modélisation sont retranscrits sur la Figure 8 montrant les valeurs de ces 2 paramètres environnementaux propices à une croissance d'au minimum 50 % du développement maximal des moisissures.

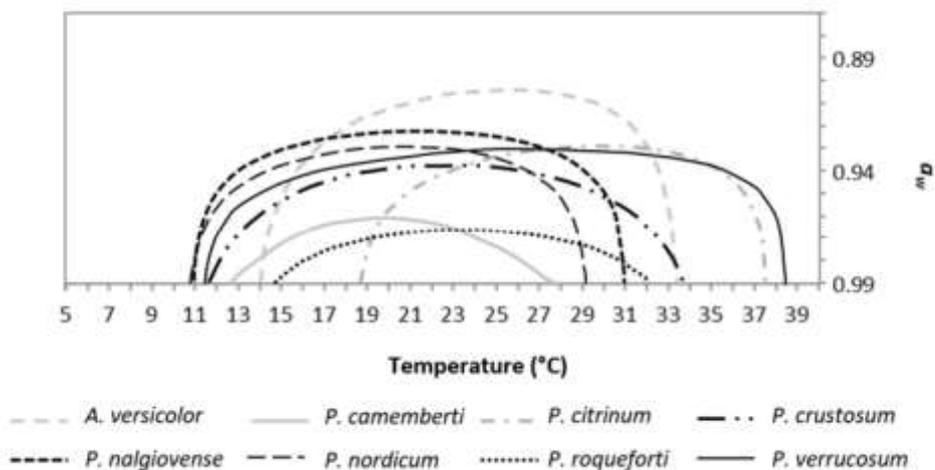


Figure 8 : Modélisation des conditions de température et d'Aw nécessaires pour atteindre un taux de croissance relatif d'au moins 50 % pour différentes espèces de moisissures (issu de Camardo Leggieri et al., 2017)

Cette modélisation suggère que les conditions environnementales permettant une croissance d'au minimum 50 % par rapport au développement maximal, sont plus restrictives pour *Penicillium roqueforti* que *Penicillium crustosum*. En effet celle-ci serait globalement possible entre 15°C et 32 °C avec une Aw supérieure à 0,97, alors que pour *Penicillium crustosum* les limites de ces intervalles seraient de 12°C et 34°C avec une Aw supérieure à 0,94. Ces conditions de développement moins restrictives pourraient expliquer la plus grande fréquence de présence de *Penicillium crustosum* sur les aliments altérés par rapport à *Penicillium roqueforti* (Camardo Leggieri et al., 2017).

Les résultats de ces deux études s'accordent avec les autres apports de la littérature selon lesquels malgré quelques différences entre les espèces : les champignons du genre *Penicillium* sont majoritairement mésophiles à psychrophiles c'est-à-dire qu'ils peuvent croître à des de 4 à plus de 30 degrés, et sur des substrats avec une large gamme de pH s'étalant de 3,9 à 6,8. De plus ces études convergent en témoignant de la forte influence de l'Aw du substrat de développement, dans la croissance des moisissures (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009).

b) Conditions environnementales influençant sur la synthèse de roquefortine C

Avant de considérer les conditions particulières de sécrétion des mycotoxines il est primordial de rappeler que les conditions environnementales permettant la toxino-génèse sont forcément plus restreintes que celles permettant la croissance de la moisissure. Il est de fait impossible d'obtenir une production de métabolites secondaires sans la présence du champignon sécréteur. Au contraire le développement du champignon sans synthèse de mycotoxines simultanée est tout à fait possible dans plusieurs cas de figures : facteurs environnementaux non favorables, souche non toxino-gène, délai insuffisant pour la synthèse de toxine, absence d'un nutriment nécessaire à cette synthèse... Néanmoins la présence de mycotoxines au sein d'un substrat en l'absence de champignon est parfaitement possible, cela peut notamment se produire lorsqu'un aliment a été exposé à des conditions favorables à la croissance de la moisissure et à sa toxino-génèse. Un changement de ces conditions peut ainsi entraîner la disparition du champignon mais la persistance des mycotoxines au sein de l'aliment.

Étant donné l'utilisation de certaines souches de *Penicillium roqueforti* pour la production de fromages, ce champignon et sa phylogénie ont été très largement étudiés. Des facteurs biotiques peuvent influencer sur sa toxigénèse et ceux-ci sont généralement classés en 2 catégories : les autres organismes présents dans son environnement (bactéries, levures, protozoaires...) et la capacité propre, de la souche de *Penicillium roqueforti* concernée, à synthétiser des toxines en possédant les séquences génétiques nécessaires à la production de ces métabolites. Si l'étude de l'effet des autres êtres vivants dans l'environnement est complexe de par la diversité d'espèces et d'actions de ceux-ci, l'étude du patrimoine génétique des moisissures par génotypage à l'aide de marqueurs satellites ou par PCR a déjà montré l'existence de diverses populations au sein de cette espèce, dérivant génétiquement les unes des autres (Fontaine et al., 2015).

Des facteurs abiotiques peuvent avoir un effet sur la croissance de *Penicillium roqueforti* et sur sa toxino-génèse. Ainsi de récents travaux menés par Fontaine et ses coauteurs en 2015 ont essayé de déterminer l'influence de quelques conditions environnementales sur cette biosynthèse (Fontaine et al., 2015). Pour cela, la quantité de roquefortine C produite par cette espèce a été mesurée dans

différentes conditions environnementales, les résultats de ces expérimentations sont présentés dans la Figure 9 ci-dessous :

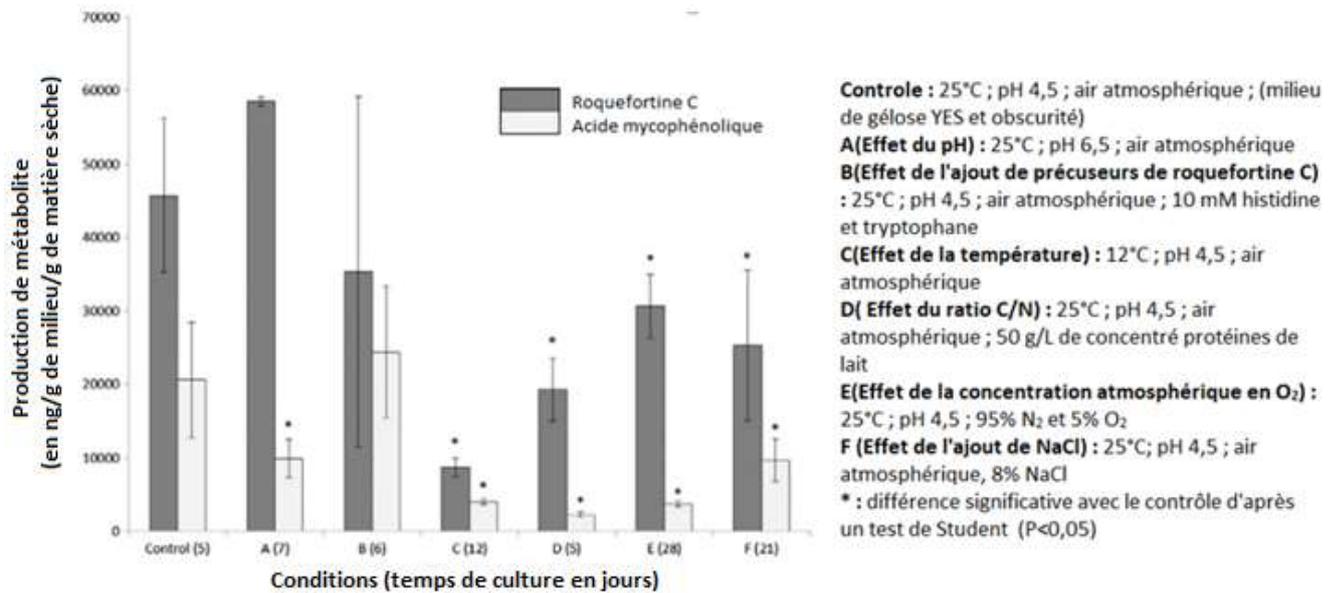


Figure 9 : Effets de différents facteurs abiotiques sur la production de roquefortine C (barres grises) et d'acide mycophénolique (barres blanches) par *Penicillium roqueforti* (d'après Fontaine et al., 2015)

Le pH :

Un pH initial plus proche de la neutralité (6,5) a entraîné une légère augmentation non significative de la production de roquefortine C par rapport au milieu contrôle plus acide.

La composition du substrat de culture :

L'ajout de précurseurs aminés de la roquefortine C (histidine et tryptophane) au milieu de culture n'a eu aucun effet significatif sur la production de cette mycotoxine. Ces résultats sont en accord avec les résultats d'une étude de 2005 selon laquelle aucun changement significatif dans la production de roquefortine C par *Penicillium roqueforti* n'avait été observé après supplémentation de la culture en précurseurs azotés (Sumarah et al., 2005).

L'addition de concentré de protéines de lait riche en acides aminés et donc en azote a lui causé une diminution très marquée, de plus de 50 % par rapport au contrôle, et significative de la biosynthèse de roquefortine C. Ces données sont à nouveau compatibles avec l'étude de Sumarah qui a démontré que bien que des acides aminés soient requis pour la croissance mycélienne et la synthèse de mycotoxines en tant que source d'azote, la production de roquefortine C par *Penicillium roqueforti* était augmentée lors de la diminution de la quantité d'azote dans le substrat du milieu initial (Sumarah et al., 2005).

La température :

Un abaissement de la température d'incubation à 12 °C, a mené à la plus grande diminution de sécrétion de roquefortine C parmi toutes les expériences menées dans cette étude, celle-ci ayant été diminuée de plus de 4 fois sa valeur témoin déterminée à 25°C. Ceci est en accord avec l'étude de Scott et ses collaborateurs de 1977 où il a été montré in vitro qu'après une période d'incubation de 49 jours, dans des conditions de milieu identiques à l'exception d'une variation de température entre les expérimentations, que la production de roquefortine C obtenue à 15°C était seulement de 60 à 70 % de celle obtenue à 25°C (Scott et al., 1977).

La quantité de dioxygène O₂ dans l'atmosphère :

Une atmosphère artificielle composée à 95 % de diazote et 5 % de dioxygène a elle aussi conduit à une diminution significative de sécrétion de roquefortine C. Cette donnée expérimentale est concordante avec les données de la littérature ou il a déjà été prouvé qu'une atmosphère terrestre était plus propice à la synthèse de cette mycotoxine par *Penicillium roqueforti* que différentes atmosphères constituées de 20 % ou 40 % de CO₂ et de 1 % ou 5 % d'O₂ (Taniwaki et al., 2001). Les résultats de cette dernière étude sont présentés dans la Figure 10 ci-dessous :

Atmosphère	Production d'Aflatoxine par <i>A. flavus</i>		Production de Roquefortine C par <i>P. roqueforti</i>	Production d'acide Cyclopiazonique par <i>P. commune</i>
	B ₁	B ₂		
Air	5850	175	0.39	34.0
20% CO ₂ +5% O ₂	4.0	2.0	0.02	2.8
20% CO ₂ +1% O ₂	0.5	0.04	0.07	0.1
40% CO ₂ +5% O ₂	0.07	0.01	0.06	0.4
40% CO ₂ +1% O ₂	0.03	ND ^A	0.05	0.04

ND : non détecté

Figure 10 : Effet de la composition atmosphérique en CO₂ et en O₂ sur la production de roquefortine C (en µg pour 10g de fromage) (d'après Taniwaki et al., 2001)

La concentration en NaCl:

Une concentration du milieu initial à 8 % de NaCl a significativement diminué la synthèse de roquefortine C, ceci pourrait laisser penser que le sel impacte négativement la production de cette mycotoxine néanmoins la concentration testée étant très importante, d'autres concentrations devraient être testées avant de pouvoir tirer cette conclusion. Au contraire dans la littérature certains auteurs ont observé une corrélation positive entre la concentration en NaCl et la quantité de roquefortine C synthétisées dans des fromages bleus (Finoli et al., 2001). Or la présence de nombreux facteurs biotiques intrinsèques dans les fromages de cette étude menée in vivo ne permet pas de valider ces résultats. Les conclusions de cette précédente étude ne sont donc pas utilisables dans d'autres conditions expérimentales (Hymery et al., 2014). En outre il est tout à fait possible que la diminution de synthèse observée expérimentalement par Fontaine et ses collaborateurs soit plus liée à la diminution de l'Aw, elle-même liée à la présence de sel, qu'à l'action directe du chlorure de sodium.

c) Conditions environnementales influençant sur la synthèse de pénitrème A

L'importante toxicité nerveuse des pénitrèmes, ainsi que leur possible présence dans des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine ou animale justifie la grande importance de l'étude des facteurs environnementaux favorables à la production de ces mycotoxines. Une étude menée par Kalinina *et al* en 2017 a tenté de déterminer les conditions optimales de production des différents de pénitrèmes (de A à F), en quantifiant la synthèse de ces mycotoxines sous différentes combinaisons de facteurs abiotiques dont : la composition du substrat, le temps d'incubation, la température, le pH, l'Aw, l'exposition à la lumière, les sources de carbone et d'azote du milieu, le stress oxydatif et la concentration en NaCl du milieu (Kalinina et al., 2017). L'essentiel des résultats de cette étude menée très majoritairement *in vitro* sont présentés dans cette partie.

Penicillium crustosum étant l'espèce la plus productrice de pénitrème A et celui-ci le principal représentant de la famille des pénitrèmes en termes de quantité sécrétée par les espèces productrices, l'étude a dans un premier temps évalué l'effet de ces différents facteurs sur la production quantitative de cette mycotoxine par cette espèce de moisissure. Les résultats de ces expérimentations sont présentés sur la Figure 11 ci-dessous:

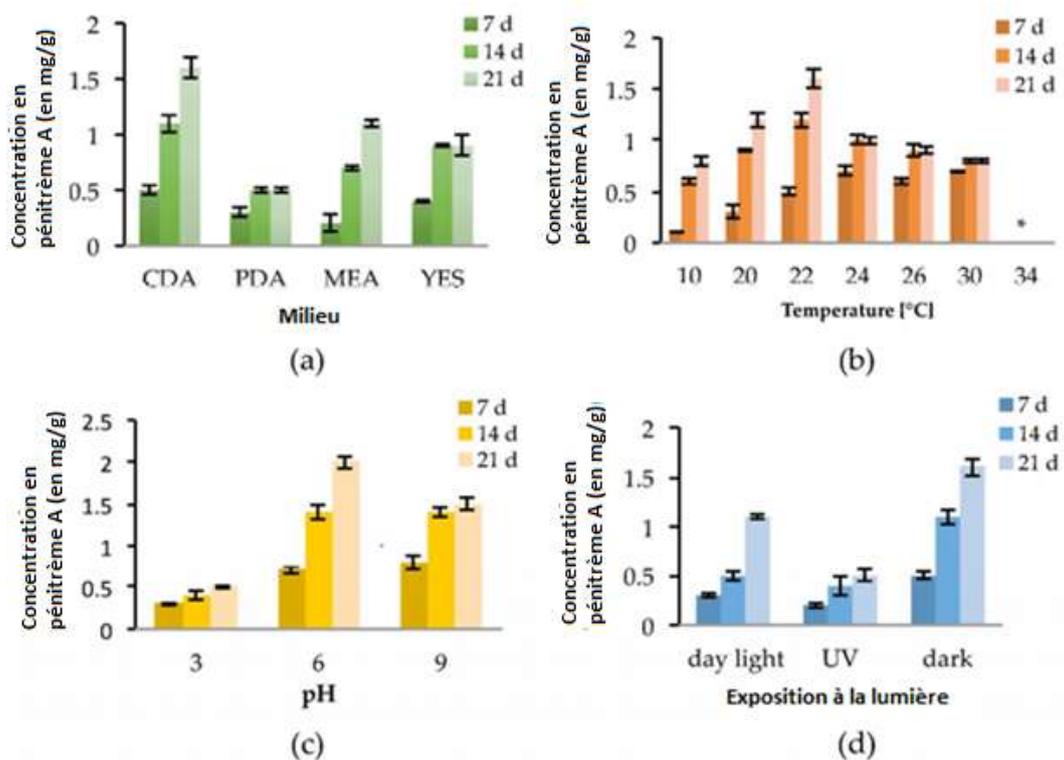


Figure 11 : Effet de la composition du substrat (a), de la température (b), du pH (c) et de l'exposition à la lumière (d) sur la production de pénitrème A (en mg/g de matière sèche) par *Penicillium crustosum* (d'après Kalinina et al., 2017)

Le temps d'incubation :

La quantité de pénitrème A produite a été et quantifiée en mg de pénitrème A par g de matière sèche, après extraction et isolation, au bout de 7,14 et 21 jours d'incubation. À quelques exceptions près, la quantité de cette mycotoxine produite par *Penicillium crustosum* augmentait toujours avec un temps de culture plus long, précisément la concentration de pénitrème A était quasiment à chaque essai plus importante après 21 jours de culture qu'après 7 ou 14 jours.

La composition du substrat de culture :

4 milieux de cultures différents ont été testés : CDA (Czapek–Dox Agar) ; PDA (potato dextrose agar), MEA (malt extract agar), YES (yeast extract sucrose medium). Les résultats ont montré qu'indépendamment du temps, *Penicillium crustosum* produisait plus de Pénitrème A en étant cultivé sur un milieu de culture CDA que sur une gélose PDA, MEA ou YES. Une autre étude menée en 2005 par Kokkonen et ses collègues avait déjà démontré l'importance et l'influence de la qualité du substrat de développement, sur le métabolisme secondaire des moisissures du genre *Penicillium*. Leurs expériences de culture ont été menées sur 3 milieux initiaux différents : le premier contenant des extraits de pains, le second à base de fromage et le dernier était un milieu de culture YES. Leurs résultats ont montré que la production de pénitrème A n'avait été possible que sur le substrat constitué de fromage et non sur les 2 autres, en revanche de la roquefortine C avait été produite dans tous les milieux de culture mais en quantité plus importante dans celui à base de fromage (Kokkonen et al., 2005). Ceci montre bien l'importance que la qualité du substrat peut jouer sur le métabolisme secondaire des moisissures, celle-ci pouvant aller jusqu'à l'inhibition totale d'une voie métabolique. La possibilité de synthèse de pénitrème A sur un milieu YES étant bel et bien possible (Kalinina et al., 2017), l'absence de cette synthèse dans l'étude de Kokkonen pouvait être expliquée par la présence d'autres facteurs abiotiques limitants et montre encore qu'un ensemble de conditions environnementales est nécessaire à la biosynthèse des toxines.

La température :

L'influence de la température sur la production de pénitrème A a été évaluée, grâce à la mesure de la production de cette toxine à 7 températures différentes entre 10 et 34°C sur un milieu de culture CDA. En raison d'études précédentes telle que celle de Menna et al en 1986 ayant démontré que la production de pénitrème A par *Penicillium crustosum* était maximale entre 20 et 26 °C (Menna et al., 1986), les auteurs ont étudié plus précisément cet intervalle de température avec des différences de seulement deux degrés entre les expériences successives. Les résultats ont été dépendants du temps de croissance : après 7 jours de culture la production maximale de pénitrème A a été observée à 24°C et 30°C, mais après un temps d'incubation de 14 ou 21 jours la synthèse la plus importante est apparue à 22°C.

Le pH :

La production de pénitrème A a été mesurée sur milieu CDA à 22°C après 7,14 et 21 jours de culture avec trois valeurs de pH différentes : 3 (milieu acide), 6 (milieu proche de la neutralité) et 9 (milieu basique). La quantité de pénitrème A produite à pH acide était toujours inférieure à celle en milieu neutre indépendamment du temps de culture. Après 7 ou 14 jours la synthèse de pénitrème A était similaire en milieu neutre ou basique, cependant après 21 jours de croissance la quantité de Pénitrème A synthétisée à pH basique était environ de 25 % moindre que celle produite à pH neutre, la biosynthèse maximale a donc été obtenue avec un pH de 6 et après 3 semaines d'incubation.

L'éclairement :

Les mêmes milieux de culture de *Penicillium crustosum* ont été mis en place et observés à la lumière du jour, dans une obscurité complète, et avec une exposition quotidienne d'une heure aux UV (ultraviolets). Les résultats ont montré que la synthèse de pénitrème A avait été la plus importante à l'obscurité, la culture sous lumière du jour ayant été significativement moins favorable à la production de cette mycotoxine. Enfin l'exposition aux UV avait très fortement diminué la synthèse de pénitrème A et était donc apparue comme très défavorable à cette biosynthèse.

La source de carbone :

L'influence de la source de carbone disponible pour la croissance mycélienne et la biosynthèse de mycotoxines a été déterminée par culture de *Penicillium crustosum* dans des boîtes de pétri avec un milieu enrichi avec différentes sources de carbone. Les résultats de ces expériences sont présentés Figure 12. Le milieu initial CDA ayant été modifié pour limiter l'apport de carbone en provenance d'un autre nutriment, la tentative de culture de la moisissure sur ce milieu initial sans apport d'une source carbone exogène s'est révélée impossible tout comme la synthèse de pénitrème A.

C Source 10 g/L	Pen A	Pen B	Pen C	Pen D	Pen E	Pen F
Aucune	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Glucose	1.13 ± 0.012	0.12 ± 0.037	+	0.26 ± 0.016	0.23 ± 0.033	+
Galactose	0.65 ± 0.013	0.07 ± 0.001	+	0.13 ± 0.002	0.12 ± 0.017	+
Arabinose	0.58 ± 0.072	0.05 ± 0.006	+	0.09 ± 0.001	0.16 ± 0.012	+
Fructose	0.62 ± 0.024	0.06 ± 0.002	+	0.11 ± 0.007	0.12 ± 0.019	+
Sucrose	0.71 ± 0.092	0.07 ± 0.001	+	0.14 ± 0.003	0.11 ± 0.026	+
Xylose	0.54 ± 0.048	0.11 ± 0.001	+	0.11 ± 0.002	0.16 ± 0.008	+
Rhamnose	0.95 ± 0.024	0.13 ± 0.017	+	0.19 ± 0.005	0.19 ± 0.002	+
Maltose	0.76 ± 0.001	0.12 ± 0.062	+	0.19 ± 0.007	0.16 ± 0.003	+
Cellulose	0.34 ± 0.013	+	ND	+	0.07 ± 0.008	ND
Sorbitol	0.45 ± 0.014	0.05 ± 0.011	ND	0.09 ± 0.001	0.08 ± 0.004	ND
Starch	0.28 ± 0.021	+	ND	+	0.05 ± 0.002	ND

Résultats en mg de mycotoxines par g de matière sèche

ND : Non détecté ; + : détecté à une concentration inférieure à la limite de quantification

Figure 12 : Effet de la source de carbone sur la synthèse des pénitrèmes par Penicillium crustosum (d'après Kalinina et al., 2017)

Les résultats ont montré que la production de pénitrème A avait été la plus importante lorsque la source de carbone avait été un mono ou un disaccharide. En particulier le glucose et le rhamnose se sont révélés être respectivement le premier et second nutriment les plus propices à cette synthèse. Au contraire les polysaccharides tels que l'amidon ou la cellulose ont été associés à la plus faible production de pénitrème A.

L'effet de la concentration de la source de carbone dans le milieu initial a lui aussi été étudié par Kalinina et ses collaborateurs. Ainsi 4 cultures identiques ont été réalisées avec du glucose à 4 concentrations différentes (5, 50, 100 et 250 g/L) comme source de carbone. Si la croissance mycélienne de *Penicillium crustosum* a été la plus importante avec de fortes concentrations en glucose (100 et 250 g/L), dans ces mêmes conditions la synthèse de pénitrème A s'est trouvée fortement diminuée. En effet comparé à la production optimale obtenue après 21 jours d'incubation à la concentration de 50 g/L de glucose, cette dernière était 10 fois moindre à la concentration de 100 g/L et 20 fois moins importante à la plus forte des concentrations testées 250 g/L (Kalinina et al., 2017). Cette diminution de biosynthèse était probablement liée au fait qu'avec de telles concentrations en monosaccharides, l'Aw du milieu de culture s'en trouvait fortement diminuée, ce qui pouvait expliquer cette chute de production. Néanmoins d'autres explications étaient possibles, telles que la création d'un stress favorisant la toxino-génèse lors de la culture des moisissures sur des milieux faiblement concentrés en glucose.

Après 21 jours de culture, la quantité de pénitrème A synthétisée était plus importante avec une concentration à 50 g/L qu'à 5 g/L suggérant que l'optimum de concentration initiale du milieu de culture en glucose pour cette expérience se situait aux alentours de 50g/L. Cependant celui-ci n'a pas été déterminé avec plus de précision.

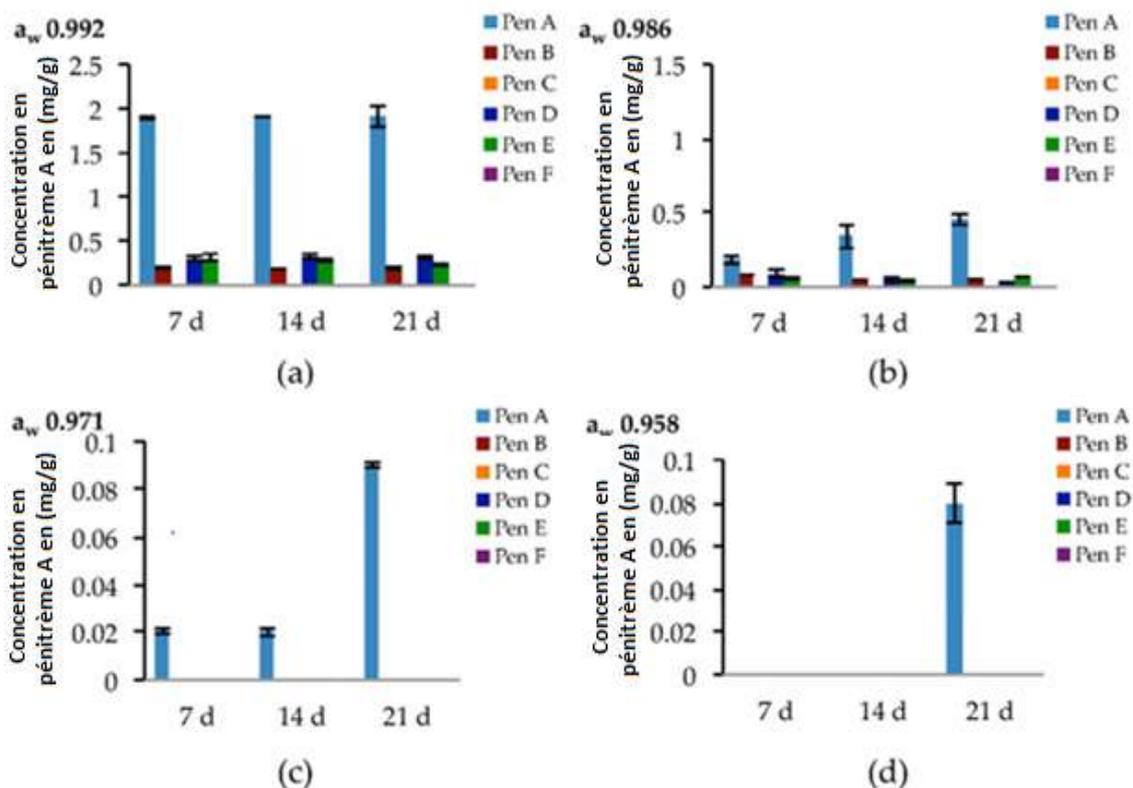
La source d'azote :

Des expériences similaires à celles réalisées pour étudier l'influence des différentes sources de carbone ont été menées pour les sources d'azote. Les résultats ont montré que de l'azote inorganique, sous forme de sels d'ammonium ou de nitrates, ajouté en supplément n'entraînait pas une augmentation significative de la synthèse de pénitrème A. Au contraire à l'exception de l'urée et du tryptophane l'apport de sources d'azotes organiques (glutamate, arginine, proline...) était à l'origine d'une augmentation significative de cette biosynthèse (Kalinina et al., 2017).

Suite à ces expériences, plusieurs cultures avec des concentrations différentes du substrat en tryptophane ont été réalisées. Cependant les résultats n'ont pas permis de mettre en évidence un effet dose dépendant de cette variable sur la synthèse de pénitrème A (Kalinina et al., 2017).

-L'activité en eau (A_w) :

Connue pour être un des paramètres environnementaux majeur de la croissance fongique (Gock et al., 2003), Kalinina et ses collaborateurs ont étudié l'influence de l' A_w sur la production des différents pénitrèmes par *Penicillium crustosum*. La Figure 13 expose les résultats de ces expérimentations :



*Figure 13 : Effet de l' A_w sur la production des pénitrèmes A à F par *Penicillium crustosum* (d'après Kalinina et al., 2017)*

De même que pour la croissance de *Penicillium crustosum* il a été démontré ici que plus l' A_w était importante plus la synthèse de pénitrème A s'en trouvait également accrue. De plus ces résultats ont montré qu'en conditions très favorables, avec une A_w de 0,992, la concentration de pénitrème A dans le champignon atteignait un plateau et demeurait stable peu importe le temps de culture, indiquant soit un niveau maximum de sécrétion par la moisissure lié à une voie métabolique saturée voire même à une autorégulation avec un possible rétrocontrôle de la mycotoxine sur sa propre synthèse, soit la présence d'un autre facteur expérimental limitant cette biosynthèse.

L'osmolarité :

De récentes études ont démontré que la biosynthèse d'ochratoxine A, une autre mycotoxine produite par des espèces du genre *Penicillium*, pouvait être augmentée dans les milieux riches en sel et que ce métabolite secondaire pourrait permettre le maintien de l'homéostasie des cellules fongiques dans des environnement à forte concentration en NaCl (Schmidt-Heydt et al., 2012). Cependant les effets d'un paramètre environnemental sur la toxogénèse ne sont pas transposables entre les différentes toxines produites.

L'influence de l'osmolarité sur la synthèse de pénitrème A a été déterminée grâce à 4 concentrations différentes en NaCl du milieu de culture (5, 10, 30 et 50 g/L), pour les 2 premières concentrations une légère augmentation non significative de production de pénitrème A a été observée par rapport aux conditions standard. Et lors des essais avec de fortes concentrations en sel (30 et 50 g/L) la quantité de pénitrème A produite était très largement diminuée, une fois encore ceci pouvait probablement être relié à la diminution de l' a_w dans les milieux très riches en NaCl, qui limitait alors la synthèse de cette mycotoxine (Kalinina et al., 2017).

Le stress oxydatif :

L'effet du stress oxydatif sur la production de pénitrème A a été étudié par le biais de la concentration du milieu de culture de *Penicillium crustosum* en eau oxygénée H_2O_2 et sulfate de cuivre $CuSO_4$. La Figure 14 ci-dessous témoigne des résultats de ces expérimentations :

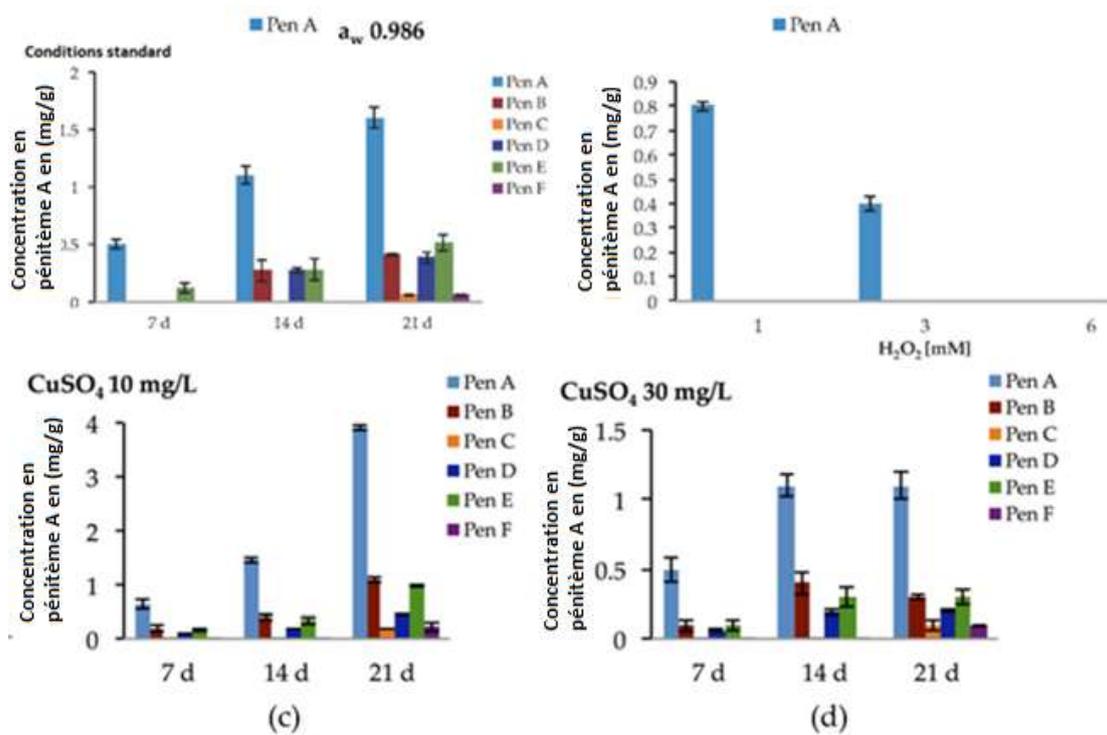


Figure 14 : Effets de l'eau oxygénée et du sulfate de cuivre sur la production de pénitrème A par *Penicillium crustosum* (d'après Kalinina et al., 2017)

Les résultats ont montré que l'eau oxygénée avait un fort effet inhibiteur sur la synthèse de pénitrème A. Au contraire une concentration de 10mg/L de sulfate de cuivre dans le milieu initial a été associée à une production de pénitrème A deux fois plus importante qu'en conditions standard au bout de 21 jours de culture, celle-ci ne semblait cependant pas modifiée les 14 premiers jours. En augmentant la

concentration de CuSO_4 à 30 mg/L, la production de la toxine semble être identique les 14 premiers jours, mais diminuée de près d'un tiers par rapport aux conditions standard après 21 jours (Kalinina et al., 2017). Il peut sembler surprenant que l'induction d'un stress oxydatif avec une substance chimique puisse augmenter une biosynthèse pour un organisme en souffrance, cependant il ne faut pas perdre de vue que les mycotoxines sont un moyen de défense et d'adaptation à leur milieu pour les cellules fongiques. Des études ont d'ailleurs déjà démontré qu'un stress oxydatif intracellulaire causé par la lumière ou différentes substances chimiques pouvait conduire à une augmentation de production des aflatoxines par *Aspergillus parasiticus* (Jayashree and Subramanyam, 2000). De même une intense synthèse de trichothécènes par des moisissures du genre *Fusarium* a été observée lors d'une induction d'un stress oxydatif par apport d'eau oxygénée (Ferrigo et al., 2015). Schmidt-Heydt et ses coauteurs ont même prouvé que l'exposition à la lumière bleue pouvait favoriser la synthèse d'une mycotoxine au détriment de la production d'une autre, ainsi sous l'effet d'un éclairage la biosynthèse de citrinine s'est trouvée augmentée et celle d'ochratoxine A partiellement inhibée chez *Penicillium verrucosum* (Schmidt-Heydt et al., 2011). Ces déviations métaboliques pourraient être expliquées ici par les propriétés anti oxydantes et lumino protectrices de ces mycotoxines, dans le but du maintien de l'homéostasie des organismes.

Influence du substrat alimentaire :

Afin de se mettre dans les conditions réelles d'intoxications canines les auteurs ont comparé la production de pénitrem A sur différents aliments ayant déjà été responsables d'intoxications avec apparition de symptômes nerveux chez un animal, à savoir du riz, des haricots blancs et des tomates (Kalinina et al., 2017). De plus étant donné que cette toxine a déjà été reconnue comme un possible contaminant du vin (Felšöciová et al., 2015), des raisins verts et rouges ont également été testés comme substrats. Les quantités de pénitrem A produites après 14 jours de culture à 22°C sont présentées sur la Figure 15 suivante :

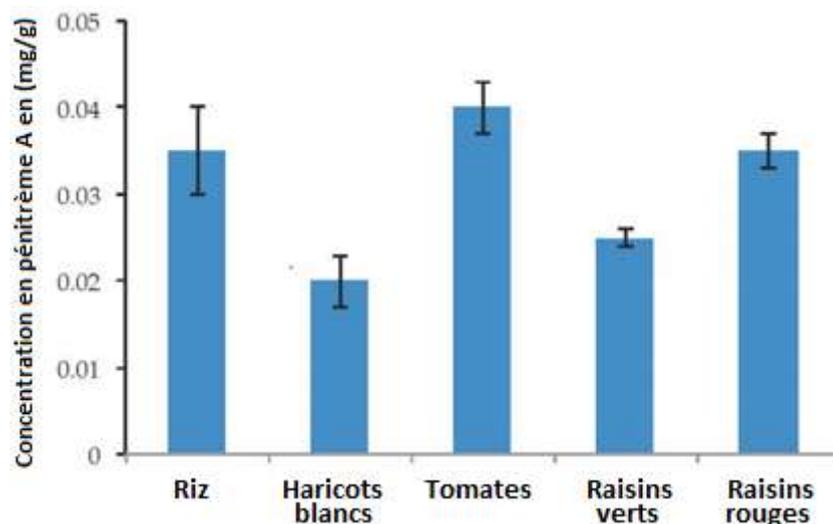


Figure 15 : Production de pénitrem A par *Penicillium crustosum* sur différents substrats alimentaires (d'après Kalinina et al., 2017)

Comme en témoigne la Figure 15, la culture de *Penicillium crustosum*, ainsi que la synthèse de pénitrem A a été possible sur les 5 aliments testés. La quantité de mycotoxines produite a été légèrement supérieure sur le riz, les tomates et le raisin rouge par rapport aux autres aliments. Ceci s'expliquait sûrement par des conditions de synthèse des mycotoxines trémorigènes plus favorables dans certains types de denrées alimentaires que dans d'autres.

L'espèce sécrétrice et la souche de moisissure :

Selon une étude menée par Menna en 1986 les conditions optimales de production des mycotoxines trémorigènes dont le pénitrème A ne sont pas exactement les mêmes selon l'espèce, voire même la souche de moisissure produisant ces toxines. Néanmoins selon ces travaux, la production de cette toxine trémorigène serait tout de même, pour la majorité des espèces sécrétrices, maximale entre 20 et 26 °C, augmenterait avec le temps d'incubation et serait diminuée lors d'une culture sous agitation (Menna et al., 1986).

En conclusion, les conditions expérimentales optimales de synthèse de pénitrème A déterminées in vitro dans l'étude de Kalinina et ses coauteurs sont : une croissance à l'obscurité, avec un pH du substrat proche de 6, une Aw proche de 1, un milieu de culture CDA, une température de 22°C, un substrat de culture avec du glucose à une concentration proche de 50g/L. La présence de sulfate de cuivre à concentration de 10 mg/L et de molécules organiques azotées dans le milieu de culture initial peut également dans certaines conditions favoriser cette production. Celles permettant la meilleure biosynthèse de roquefortine C sont : un pH proche de 7, une atmosphère aérique, une température proche de 25°C et une quantité restreinte d'azote dans le substrat de croissance.

Bien qu'intéressantes afin de déterminer les conditions météorologiques ou de conservation des aliments les plus propices à l'occurrence de synthèse des mycotoxines trémorigènes, ces conditions optimales de sécrétions du pénitrème A et de la roquefortine C sont moins importantes à connaître que leurs limites. En effet dans le cas d'une intoxication alimentaire d'un chien, si celle-ci est suspectée, le vétérinaire doit déterminer s'il est possible que les facteurs environnementaux aient ou non permis la croissance de *Penicillium roqueforti* ou *crustosum* et la synthèse mycotoxines trémorigènes.

Étant donné l'occurrence d'intoxications canines d'ores et déjà démontrées au pénitrème A et à la roquefortine C suite à l'ingestion d'aliments moisissus, le questionnement au sujet de la possibilité de réunion des facteurs biotiques et abiotiques permettant la synthèse de ces mycotoxines en conditions naturelles ne se pose plus. S'il s'avère impossible, sans analyses de laboratoire, de déterminer si un aliment est altéré par une espèce donnée de moisissure avec ou sans présence de mycotoxine, il est en revanche possible de suspecter fortement ou faiblement la présence de celles-ci en fonction de la denrée alimentaire ingérée et de son origine. Par exemple un aliment très sec, très salé, ou conservé à une température inférieure à 0°C n'a quasiment aucune chance d'être contaminé par des espèces du genre *Penicillium*, celles-ci ne pouvant croître dans de telles conditions, et ne peut donc pas être source de pénitrème A et roquefortine C.

Ce même raisonnement peut être appliqué lors d'intoxications de chiens dans l'environnement extérieur par un aliment inconnu, si la consommation a eu lieu lors d'un été chaud, ensoleillé et très sec ou d'une période avec des températures constamment négatives durant plusieurs jours consécutifs, il est peu probable que des denrées alimentaires soient source de pénitrème A ou roquefortine C. Néanmoins une telle consommation n'est jamais exclue pour autant, car l'activité de l'homme peut mettre de potentielles sources de mycotoxines trémorigènes à disposition des chiens en toute saison, notamment lors de la sortie de pouelles domestiques en extérieur.

3. Les autres mycotoxines trémorigènes

Ce travail se focalisant sur l'intoxication des chiens aux mycotoxines trémorigènes, le pénitrème A et la roquefortine C sont étudiés plus en détail car ce sont les 2 seuls métabolites secondaires fongiques, dont la capacité à induire des troubles nerveux lors d'intoxications naturelles chez le chien a été scientifiquement rapportée (Arp and Richard, 1979; Boysen et al., 2002; Eriksen et al., 2010; Hocking et al., 1988; Lowes et al., 1992; J.S. Munday et al., 2008; Naudé et al., 2002; Puls and Ladyman, 1988; Richard et al., 1981; Richard and Arp, 1979; Walter, 2002; Young et al., 2003). La littérature ne mentionne en effet aucun cas où une autre mycotoxine a été mise en évidence par analyse, lors d'occurrence de troubles nerveux chez un chien suspecté d'être victime d'une intoxication à un aliment moisi. Cependant certains métabolites secondaires fongiques ont déjà prouvé leur potentiel trémorigène dans d'autres espèces animales, en particulier chez les ruminants en raison de leur possible accumulation dans les fourrages.

a) Diversité des espèces sécrétrices, des mycotoxines trémorigènes et des aliments altérés

Une vingtaine de mycotoxines ont démontré un potentiel trémorigène. Celles-ci sont sécrétées par des moisissures appartenant à 4 genres de champignons : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Claviceps* et *Epichloe*. Suite à un récent changement de nomenclature des espèces appartenant au genre *Neotyphodium*, historiquement réputé pour ses espèces productrices de toxines trémorigènes, sont désormais classées dans le genre *Epichloe* (Leuchtman et al., 2014). Ces métabolites secondaires neurotoxiques, ainsi que les substrats alimentaires permettant leur synthèse sont recensés dans le Tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Les mycotoxines trémorigènes, associées à leurs moisissures sécrétrices et à leurs plus fréquents substrats de développement (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009; Evans and Gupta, 2018; Frisvad et al., 2004; Gallagher et al., 1980; Lheureux et al., 2018)

Mycotoxine trémorigène	Espèces sécrétrices	Substrats alimentaires fréquemment contaminés
Aflatrème	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus clavatus</i>	Maïs
Fumitrémorigènes A, B et C	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus caespitosus</i> <i>Penicillium mononematosum</i> <i>Penicillium simplicissimum</i> <i>Penicillium brasilanum</i> <i>Penicillium piscarium</i>	Viandes séchées et fermentées Foin et ensilages
Janthitrèmes A, B et C	<i>Penicillium janthinellum</i>	Ray-grass anglais (<i>Lolium perenne</i>)
Lolitrèmes A, B, C et D	<i>Epichloe festucae</i> ¹	Ray-grass anglais (<i>Lolium perenne</i>)
Lolitriol	<i>Epichloe festucae</i> ¹	Ray-grass anglais (<i>Lolium perenne</i>)
Paspalitrèmes A, B et C	<i>Claviceps paspali</i>	Dallisgrass (<i>Paspalum dilatatum</i>)
	<i>Claviceps cinerea</i>	Bahiagrass (<i>Paspalum notatum</i>)
	<i>Claviceps cynodontis</i>	Bermudagrass (<i>Cynodon dactylon</i>)
Paspalinine	<i>Claviceps paspali</i>	Dallisgrass (<i>Paspalum dilatatum</i>)
	<i>Claviceps cinerea</i>	Bahiagrass (<i>Paspalum notatum</i>)
	<i>Claviceps cynodontis</i>	Bermudagrass (<i>Cynodon dactylon</i>)
Paxilline	<i>Epichloe festucae</i> ¹	Ray-grass anglais (<i>Lolium perenne</i>)

	<i>Penicillium paxilli</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium puberulum</i>	
Pénitrème A	Nombreuses espèces de <i>Penicillium</i> dont notamment : <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium commune</i>	Viandes, céréales, féculents cuits, noix, fromages, œufs, fruits, compost, déchets alimentaires
Roquefortine C ²	espèces de <i>Penicillium</i> dont : <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium roqueforti</i>	Viandes, céréales, féculents cuits, noix, fromages, œufs, fruits, compost, déchets alimentaires
Territrèmes A, B	<i>Aspergillus terreus</i> <i>Penicillium cavernicola</i> <i>Penicillium echinulatum</i>	Céréales
Thomitrière A et E	<i>Penicillium crustosum</i>	Déchets alimentaires divers
Tryptoquivalines trémorigènes	Nombreuses espèces de <i>Penicillium</i>	Sols, graines, cultures de céréales
	<i>Aspergillus clavatus</i>	Pousse de céréales, produits maltés
Verrucosidine/normethyl verrucosidine	<i>Penicillium verruculosum</i> var. <i>cyclopium</i> <i>Penicillium aurantiogriseum</i> <i>Penicillium melanoconidium</i> <i>Penicillium polonicum</i>	Viandes séchées et fermentées
Verruculogène	<i>Penicillium verruculosum</i> <i>Penicillium simplicissimum</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium piscarium</i> <i>Penicillium puberulum</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus caespitosus</i>	Sols, graines, cultures de céréales, fourrages

*Epichloe festucae*¹: anciennement *Neotyphodium lolii* ou *Acremonium lolii* (Leuchtman et al., 2014)

Roquefortine C² : ce composé aurait d'après certains auteurs un effet uniquement paralysant et non trémorigène (Tiway et al., 2009)

b) Conditions de synthèse et risque d'intoxication des différentes espèces animales

Comme en témoigne le Tableau I, les moisissures productrices de mycotoxines trémorigènes sont capables de croître sur une grande variété d'aliments destinés à la consommation humaine et animale. Étant donné les régimes alimentaires distincts selon les différentes espèces animales, les aliments et les mycotoxines responsables d'intoxications nerveuses ne sont pas les mêmes selon les espèces. En effet dans le cas des chiens : les noix moisies, le compost et les restes d'aliments initialement destinés à la consommation par l'homme sont les denrées les plus propices à causer des intoxications, associées à la présence de signes neuro-musculaires, en raison de la présence de pénitrème A et roquefortine C (Adamczyk et al., 2016). Concernant les herbivores et en particulier les espèces de rentes tels que les bovins, les caprins, les ovins et les équins ; l'ensemble de leur alimentation peut présenter un risque de contenir de mycotoxines trémorigènes car de nombreuses moisissures sécrétrices de tels

métabolites sont capables d'altérer les fourrages frais ou conservés, les grains de céréales stockés, les ensilages de maïs ou d'herbe, et certains coproduits destinés à l'alimentation animale.

En raison de sa fréquente altération par des champignons sécréteurs de mycotoxines trémorigènes le ray-grass anglais (*Lolium perenne*) est une graminée fourragère régulièrement impliquée dans l'apparition d'un syndrome nerveux caractéristique chez les ruminants : le « rye-grass staggers syndrome » littéralement traduit en Français par « titubements du ray-grass ». Ce syndrome de « staggers » n'est pas spécifique à une seule mycotoxine, ni à un type de fourrage, et se caractérise par un ensemble de plusieurs symptômes nerveux : tremblements, ataxie, convulsions, incoordination motrice, hochement de tête, fasciculations des membres, hyperesthésie, nervosité, parésie (Evans and Gupta, 2018; Grancher and Bony, 2003). Bien que plus fréquemment rapporté chez les ruminants domestiques, ce syndrome de titubements ou « staggers » existe également chez les herbivores monogastriques dont notamment les équidés (Cawdell-Smith et al., 2010) et chez les ruminants sauvages, comme le wapiti (Mackintosh et al., 1982).

Quatre genres de champignons sont donc capables de synthétiser des toxines à effet trémorigène :

-Les mycotoxines trémorigènes synthétisées par des moisissures du genre *Penicillium* :

Le pénitrème A et la roquefortine C ne sont pas les seules métabolites secondaires issues de champignons du genre *Penicillium* à pouvoir induire des troubles nerveux, en effet l'espèce *Penicillium janthinellum* est capable de synthétiser les Janthitrèmes A, B et C qui sont des mycotoxines ayant déjà été responsables de staggers chez des moutons broutant du ray-grass (Evans and Gupta, 2018). De plus certaines espèces telles que *Penicillium crustosum* sont capables de synthétiser à la fois des pénitrèmes et des roquefortines, ces moisissures peuvent donc produire plusieurs mycotoxines pathogènes simultanément. Enfin dans l'alimentation des herbivores on peut notamment retrouver de la roquefortine C dans la pulpe de betterave ou les ensilages de maïs et des pénitrèmes dans les céréales (Gauthier, 2016a; Grancher and Bony, 2003).

-Les mycotoxines trémorigènes synthétisées par des moisissures du genre *Aspergillus* :

Les *Aspergilli* ont une très vaste répartition à l'échelle de la planète, la plupart des espèces sont adaptées aux climats chauds, on les retrouve donc principalement en zones tropicales ou sub tropicales, et leurs températures de croissance optimales se situent souvent entre 25 et 40°C. Certaines d'entre elles sont également des espèces xérophiles, elles contaminent donc souvent des denrées alimentaires pauvres en eau telles que les charcuteries de salaison, les céréales et les fruits séchés (Gauthier, 2016a). Les *Aspergilli* et en particulier *Aspergillus fumigatus* sont avec les *Penicilliums* les moisissures les plus souvent responsables de l'altération du foin lors de sa conservation (Fangeat, 2008). Or cette espèce est sécrétrice de verruculogène et de fumitrémorigène, ainsi en cas de mauvaise conservation de leurs fourrages les herbivores domestiques sont donc potentiellement exposés quotidiennement à un risque de consommation de molécules trémorigènes. Le verruculogène a d'ailleurs déjà été associé à l'apparition de troubles nerveux chez le rat, la souris et les animaux de production (Evans and Gupta, 2018). Quant aux Fumitrémorigènes, ils ont d'ores et déjà été retrouvés en quantité toxique dans des silos d'herbes et de maïs, ou encore dans des bottes d'enrubannage suite à leur altération par *Aspergillus fumigatus*, et dans du riz non décortiqué contaminé par *Aspergillus Terreus* (Grancher and Bony, 2003).

Certains membres de ce genre tels *Aspergillus flavus* sont plutôt connus pour leurs synthèses d'autres métabolites secondaires, en effet bien que sécrétrice d'aflatrèmes qui sont des métabolites neurotoxiques, cette moisissure est plus souvent à l'origine d'intoxications liées à sa production d'aflatoxines.

-Les mycotoxines trémorigènes synthétisées par des moisissures du genre *Epichloe*:

Epichloe festucae (anciennement *Neotyphodium lolii* ou *Acremonium lolii*) (Leuchtman et al., 2014) est un champignon endophyte des graminées fourragères dont notamment le ray-grass anglais (Grancher and Bony, 2003). Ce champignon se développe surtout dans la partie inférieure de la graminée fourragère, ce qui explique que la majorité des intoxications survient à la fin de l'été lorsque les pâtures commencent à s'appauvrir et les animaux à brouter l'herbe plus à ras du sol après plusieurs jours de consommation. Cette espèce de moisissure a déjà été incriminée dans des cas de « grass staggers » chez des bovins, des équins et des cerfs mais est le plus souvent rapportée chez les ovins broutant du ray-grass anglais où elle est nommée « perennal ryegrass staggers ». L'apparition de troubles nerveux y est liée à la présence de lolitrèmes et en particulier le lolitrème B, dans les végétaux ingérés. Ces mycotoxines neurotoxiques sont à l'origine de troubles nerveux non discernables de ceux apparaissant lors d'intoxications avec d'autres mycotoxines trémorigènes. Les champignons de ce genre peuvent également produire des ergotoxines et en particulier l'ergovaline, qui peuvent être responsable d'une nécrose des extrémités des animaux en cas d'intoxications chroniques (Evans and Gupta, 2018).

La symbiose formée par ces champignons endophytes et le ray-grass confère des propriétés de résistance à la graminée, ce qui explique qu'elle ait été sélectionnée dans les variétés de ray-grass utilisées pour les gazons d'agrément ou de sport. Au contraire les variétés de ray-grass fourragères ont été sélectionnées pour être moins propices à cette endophytose, ou plus susceptibles à une symbiose avec un endophyte hypotoxinogène (Grancher and Bony, 2003). Il paraît donc peu raisonnable de laisser pâturer un herbivore sur un gazon de jardin récemment planté, un terrain de sport ou dans des vieilles prairies à base de ray-grass anglais non sélectionné.

-Les mycotoxines trémorigènes synthétisées par des moisissures du genre *Claviceps*:

Les moisissures du genre *Claviceps* sont surtout connues pour leur synthèse d'ergolines, ces mycotoxines sont responsables de l'ergotisme, une intoxication décrite chez diverses espèces animales y compris l'homme (Evans and Gupta, 2018; Fangeat, 2008). Elles se développent notamment sur certaines céréales comme le seigle et le triticale, ainsi que sur des graminées fourragères dont la fétuque, le ray-grass anglais et les herbes du genre *Paspalum* (Grancher and Bony, 2003). Il existe 2 formes d'intoxication à l'ergot chez les animaux : la forme chronique ou gangréneuse surtout rencontrée chez les bovins et qui se caractérise par une nécrose des extrémités du corps liée à une vasoconstriction des vaisseaux (queue, oreilles) ; et la forme nerveuse aiguë le plus fréquemment observé chez les chevaux, les ovins et les carnivores suite à une l'ingestion d'une grande quantité de toxines (Fangeat, 2008).

L'espèce *Claviceps purpurea* est la plus grande sécrétrice de mycotoxines de ce genre, mais elle n'est pas responsable de l'apparition de troubles nerveux. En effet il est aujourd'hui établi que la neurotoxicité parfois observée après consommation de sclérotés de certaines espèces de *Claviceps* est liée à la présence de mycotoxines trémorigènes dont la paspalinine et les paspalitrèmes A, B et C. *Claviceps paspali* est l'espèce la plus impliquée dans l'apparition de « staggers », moins fréquemment ces symptômes sont dus aux espèces *Claviceps cinerea* et *Claviceps cynodontis*. Les cas d'intoxications aiguës sont surtout rapportés dans le sud des États-Unis, en Amérique centrale, en Afrique du sud, en Australie et en Nouvelle Zélande suite à l'ingestion de sclérotés infestant des espèces fourragères tels que la dallisgrass, bahiagrass et la bermudagrass. Les plantes du genre *Paspalum* sont d'ailleurs endémiques de certaines régions tropicales, et leurs inflorescences sont souvent parasitées par *Claviceps paspali*. Au même titre que pour le ray-grass les termes « Dallisgrass staggers, Bahiagrass staggers et Bermudagrass staggers » sont alors employés lors de ces intoxications, et une fois encore

celles-ci ne sont pas cliniquement différenciables de celles causées par d'autres mycotoxines trémorigènes (Evans and Gupta, 2018). Bien que souvent présente dans ces végétaux à l'origine d'intoxications nerveuses aiguës, *Claviceps purpurea* n'est donc pas réellement impliquée dans l'apparition de ces symptômes.

La majorité des espèces de moisissures sécrétant des mycotoxines trémorigènes se développe donc sur des fourrages frais ou stockés, des céréales ou encore des coproduits destinés à l'alimentation du bétail. Ces denrées d'origine végétale étant peu appétantes pour l'espèce canine en comparaison avec des restes alimentaires d'aliments humains, des éléments compost ou des noix moisies, il est compréhensible qu'aucune publication ne témoigne d'une intoxication nerveuse chez un chien causée par d'autres mycotoxines trémorigènes que le pénitrème A et la roquefortine C. Néanmoins il est probable que de telles intoxications aient déjà eu lieu mais qu'elles n'aient pas été diagnostiquées. D'ailleurs certaines moisissures telles qu'*Aspergillus fumigatus* sont présentes en quantité importante dans les composts (Kothary et al., 1984), et la présence de tryptoquivaline et de fumitrémorigène A y a déjà été démontrée également (Fischer et al., 1999). Il est donc en théorie possible que les chiens puissent s'intoxiquer avec d'autres mycotoxines trémorigènes que celles issues d'espèces du genre *Penicillium*. À ce propos, la possible prédation d'herbivores par l'espèce canine pourrait elle aussi en théorie être à l'origine d'une consommation de ces mycotoxines normalement absentes de l'alimentation des carnivores domestiques. Ainsi la consommation de l'appareil digestif des proies et de son contenu, pourrait entraîner des troubles neuro-musculaires chez le chien les consommant, sous réserve que ceux-ci renferment des métabolites secondaires trémorigènes. Néanmoins ce cas de figure reste très théorique car la proie serait, elle-même, sûrement déjà victime de troubles liés aux toxines.

B) Caractéristiques des mycotoxines trémorigènes

1) Structure et propriétés physico chimiques

1. Structure

Les mycotoxines trémorigènes appartiennent pour la plupart au groupe des indoles diterpènes (Naudé et al., 2002). La structure moléculaire principale des composés de ce groupe est formée d'un dérivé de diterpène cyclique (lui-même issu de l'assemblage de 4 unités d'isoprène) accolé à un noyau indole. La diversité structurale au sein de cet ensemble est due à différentes prénylations et substitutions des cycles et à la stéréochimie variable de ses substituants (Kalinina et al., 2017; Ludlow et al., 2019). Quelques un de ces composés sont représentés sur la Figure 16 suivante :

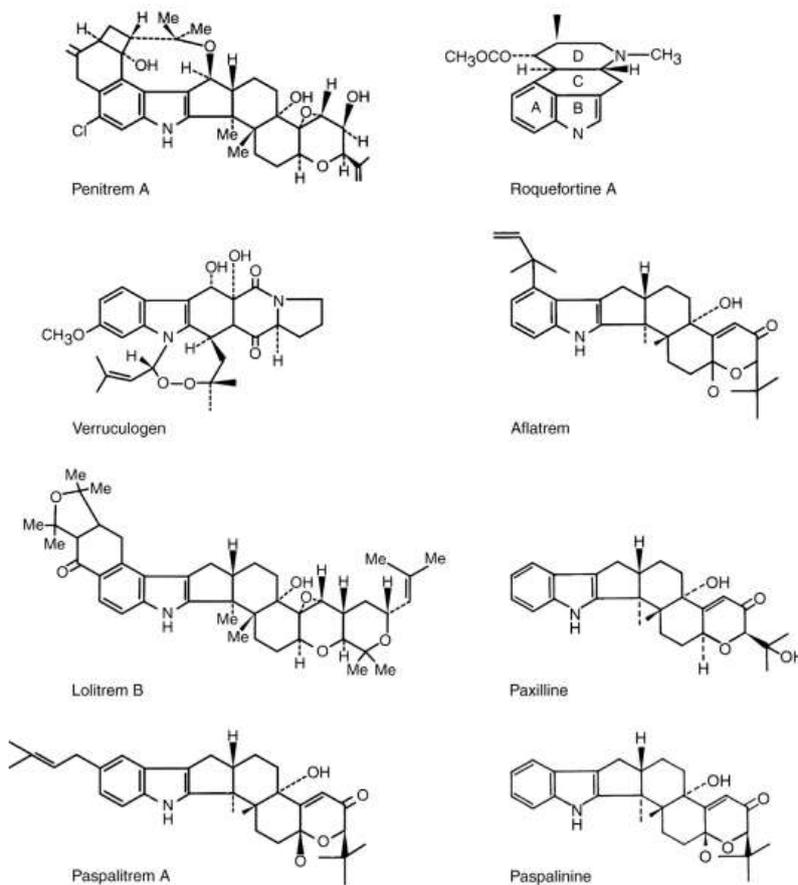


Figure 16 : Structures de quelques composés trémorigènes du groupe des indoles diterpènes (issu de Evans and Gupta, 2018)

Les pénitremes forment un sous-groupe de 7 molécules au sein des indoles diterpènes, eux aussi possèdent un squelette structural commun. Leur diversité est liée à la présence de différents groupes fonctionnels (substituant Cl, groupement hydroxyle, groupement époxyde, alcène, éther (pont éther C16-C18)) et à leur position sur ce squelette commun (Ludlow et al., 2019). Les formules topologiques des 7 pénitremes sont présentées sur la Figure 17 :

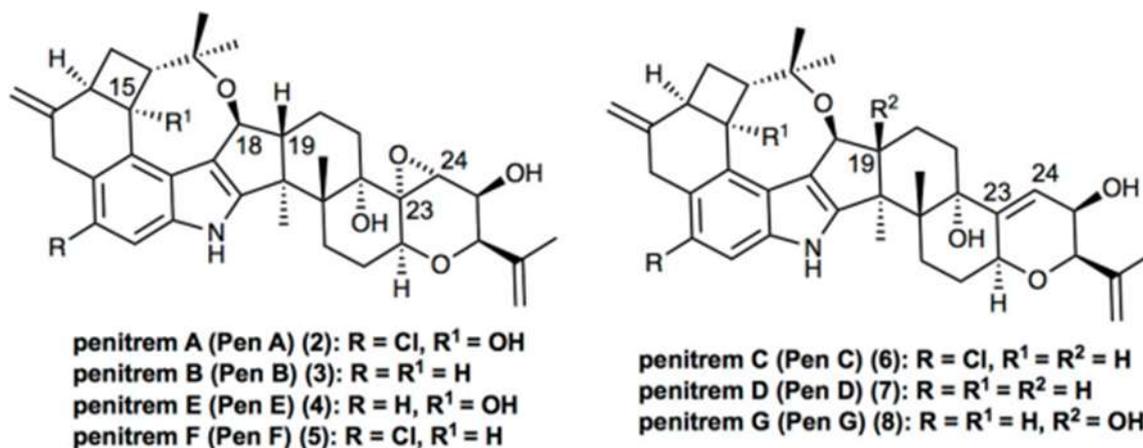


Figure 17 : Structures des pénitremes (issu de Kalinina et al., 2016)

Précisément les pénitrèmes A, C et F possèdent un groupement chlorure, les pénitrèmes A et E un groupement hydroxyle en C-15, les pénitrèmes C et D ont une double liaison entre C-23 et C-24 alors que ces 2 carbones forment une fonction époxyde à cette position dans les autres composés. Le pénitrème G présente lui un groupe hydroxyle en C19. Enfin d'autres composés proches de ce groupe n'y sont pas inclus en raison de l'absence de la fonction éther formée par C16 et C18, ce sont les secopénitrèmes B et D et le thomitrème A (Kalinina et al., 2017). Bien qu'ayant une structure chimique très proche des autres molécules, le pénitrème A, de formule brute $C_{37}H_{44}ClNO_6$ est plus souvent incriminé dans des cas d'intoxication canine que les autres pénitrèmes car il est généralement présent en plus grande quantité dans les échantillons analysés (Eriksen et al., 2010).

Certaines mycotoxines trémorigènes n'appartiennent pas au groupe des indoles diterpènes, le verruculogène, les fumitremorgènes A, B et C et la roquefortine C sont en effet des dicétopiperazines (Gu et al., 2013), dont les membres possèdent un noyau pipérazine dans leur structure. La formule brute de la roquefortine C est $C_{22}H_{23}N_5O_2$, sa représentation topologique est présentée sur la Figure 18 ci-dessous :

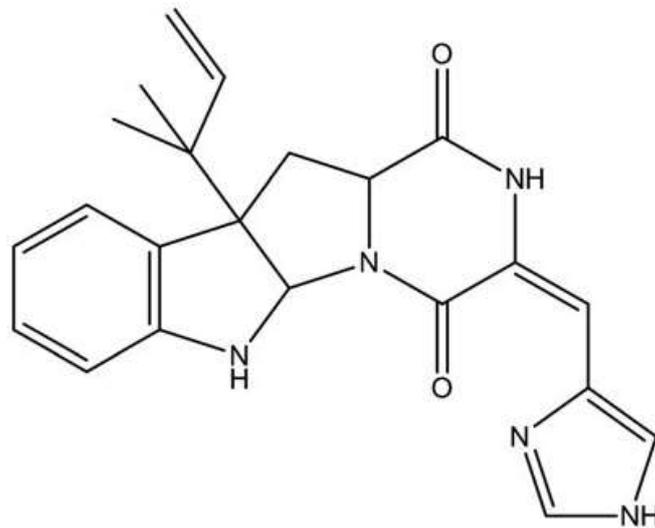


Figure 18 : Structure de la roquefortine C (issu de Rathnayake et al., 2020)

Bien que la roquefortine C ne soit pas un indole diterpène, un noyau indole est tout de même présent dans sa structure.

La verrucosidine et les territrèmes n'appartiennent pas au groupe des indoles dipterpenes, ni à celui de la dicétopipérazine, en effet ces 2 molécules ne possèdent pas d'atome d'azote et donc pas de noyau indole. Pour autant elles ont déjà démontré un potentiel trémorigène (Sabater-Vilar et al., 2004)

Les mycotoxines sont en très grande majorité des molécules de faible poids moléculaires inférieurs à 1000 Daltons, c'est le cas du pénitrème A et de la roquefortine C avec des masses molaires respectives de 633,2 et 389,5 Daltons. De plus comme la plupart des mycotoxines les indoles diterpènes et les dicétopipérazines sont des composés hétérocycliques insaturés, avec des doubles liaisons C=C potentiellement responsable de leur toxicité (Gauthier, 2016a).

2. Propriétés physico chimiques

De par la présence d'un noyau indole, d'un dérivé de diterpène cyclique, d'un noyau pipérazine ou encore d'autres éléments structuraux les mycotoxines trémorigènes sont des molécules lipophiles. De plus ce sont des molécules de tailles et de masses moléculaires restreintes ce qui explique en partie leur capacité à franchir la barrière hémato méningée et leur potentiel effet neurotoxique, de même que la forte composition lipidique des tissus nerveux.

Ces molécules sont solubles dans différents solvants tels que le dichlorométhane (Braselton and Johnson, 2003), le formiate d'ammonium ou l'acétonitrile (Rudolph et al., 2018), le diméthylsulfoxyde, le méthanol, l'éthanol et l'acétone (Source : <https://www.chemblink.com/moreProducts/more12627-35-9.htm>), mais sont peu solubles dans l'eau.

Très peu voir quasiment aucune donnée sur la stabilité du pénitrème A et de la roquefortine C dans des échantillons biologiques existent. Leurs formes purifiées et solides sont réputées stables si elles sont conservées dans un contenant hermétique et à des températures inférieures à -20°C. Cependant aucune information sur la stabilité en solution liquide de ces métabolites n'existe à ce jour. De même les points de fusion des formes solides et pures du pénitrème A et de la roquefortine C respectivement de 230 °C et 202 à 205°C (Source : <https://www.chemblink.com/moreProducts/more12627-35-9.htm>), ne sont pas applicables à des composés présents dans des échantillons biologiques.

2) Diversité, histoire et interrogations

1. Limites de définition, et d'étude

Les mycotoxines trémorigènes sont par définition : des métabolites secondaires produits par des espèces fongiques et capables d'induire une toxicité nerveuse (Waratuke, 2017) Pour qu'une substance soit considérée comme telle il faut donc nécessairement qu'elle soit issue d'un métabolisme fongique et qu'elle ait une action neurotoxique potentiellement source de troubles nerveux observables chez l'homme ou l'animal. À l'exception de la verrucosidine, des territrèmes, de quelques dicétopipérazines et de leurs dérivés, seules des molécules appartenant aux indoles diterpènes sont reconnues unanimement comme des mycotoxines trémorigènes.

Beaucoup de mycotoxines sont capables d'induire des troubles nerveux sans être doté d'une toxicité nerveuse initiale. En effet ces composés ont un effet toxique majoritaire sur d'autres organes ou tissus que le système nerveux. Néanmoins les conséquences de cette toxicité peuvent entraîner une atteinte du système nerveux. C'est le cas des aflatoxines à toxicité majoritairement hépatique et des ochratoxines à toxicité essentiellement rénale qui peuvent ainsi perturber l'homéostasie, par modification de l'azotémie et de la natrémie (Gauthier, 2016a). Ces changements peuvent alors secondairement affecter les neurones, d'autant plus que ces cellules sont très sensibles aux modifications de ces paramètres extracellulaires. Ces dysfonctionnements neuronaux peuvent ensuite potentiellement engendrer des troubles nerveux macroscopiquement observables.

2. Découverte et intérêt d'étude

L'histoire de la découverte des mycotoxines trémorigènes débute dans les années 60, en effet en 1964 une étude menée par Wilson et Wilson a démontré que certaines souches d'*Aspergillus flavus*, présentes sur des denrées alimentaires, étaient capables de synthétiser une substance pouvant induire des tremblements ou des convulsions après administration à des souris (Wilson and Wilson, 1964). Quatre ans plus tard ces auteurs font la même constatation avec des souches de *Penicillium cyclopium*, à l'origine elles aussi de la production d'un métabolite trémorigène (Wilson et al., 1968), ils décident alors de nommer cette molécule « pénitrème A » (Wilson et al., 1972). Dans ces 2 études, aucun des 2 composés, nouvellement mis en évidence par leur effet, ne correspond à l'époque à une toxine préalablement identifiée dans le métabolisme secondaire des 2 espèces fongiques concernées. Une nouvelle publication montrera dans les années suivantes que la substance trémorigène ayant été produite par *Aspergillus flavus* était l'aflatrème (Gallagher et al., 1980). L'existence de molécules potentiellement source de tremblements ou de convulsions généralisées chez l'animal et synthétisées par des moisissures était dès lors prouvée.

En 1979, la neurotoxicité du pénitrème A produit par *Penicillium crustosum* est suspectée dans le cas de 2 chiens ayant été victimes de tremblements, suite à l'ingestion de fromage à la crème dans lequel cette moisissure et cette mycotoxine ont été mises en évidence par analyse (Arp and Richard, 1979; Richard and Arp, 1979). Deux ans plus tard, la présence de cette même toxine et de ce même champignon est prouvée dans des noix moisies ingérées par un chien quelques heures avant que celui-ci présente des convulsions (Richard et al., 1981). Peu de temps après un cas d'intoxication humaine lié à la consommation d'une bière contaminée par *Penicillium crustosum*, avec détection de la présence de roquefortine C et d'autres mycotoxines dans la boisson, est également rapporté (Cole et al., 1983). Ces occurrences d'intoxications, coïncidentes avec la découverte de la toxicité nerveuse de certaines mycotoxines ont alors augmenté l'attention portée à ces substances pathogènes.

En parallèle de ces épisodes ponctuels et individuels, les animaux de rentes étaient eux aussi occasionnellement soumis à des symptômes neurologiques se manifestant sous la forme de titubements. Ainsi des cas de « staggers » avaient déjà été rapportés à plusieurs reprises pour des troupeaux d'ovins et de bovins évoluant sur des pâtures essentiellement composées de ray-grass en Nouvelle Zélande, et pour des troupeaux de vaches pâturant en zones tropicales sur des terres riches en herbes du genre *Paspalum* (Mantle, 2009). Des études ont alors été menées dès le milieu des années 70 en Nouvelle Zélande, en raison de la grande importance des systèmes extensifs et de la forte fréquence du syndrome de ray grass staggers dans ce pays. En 1978 Mantle et ses coauteurs ont démontré que les signes cliniques observés chez des veaux ou des moutons suite à une administration orale de pénitrème A ou de la molécule trémorigène synthétisée par la moisissure *Claviceps paspali* étaient indiscernables, bien que la dose nécessaire pour induire des effets identiques était différente pour ces 2 toxiques (Mantle et al., 1978). Diverses études ont alors été menées afin de déterminer la cause du ray-grass staggers en analysant la diversité fongique du sol et la composition de feuilles mortes (Fletcher and Harvey, 1981) ou encore en recensant et dénombrant les espèces de *Penicillium* présentes dans les fèces de ruminants pâturant du ray-grass (Di Menna and Mantle, 1978). Cependant aucune différence significative de population des espèces de *Penicillium* entre les pâtures à l'origine et celles indemnes d'intoxications n'a pu être démontrée dans ces travaux (Fletcher and Harvey, 1981). Suite à ces échecs certains scientifiques ont alors commencé à s'intéresser aux champignons endophytes du ray-grass, qui étaient pourtant à cette époque considérés comme des organismes commensaux insignifiants (Fletcher and Harvey, 1981). À la même époque une autre étude a permis de découvrir l'existence de 2 potentielles nouvelles neurotoxines présentes dans le ray-grass, ces

composés sont alors nommés les lolitrèmes A et B (nom formé du nom latin du ray-grass anglais *Lolium perenne* et du mot tremor lié aux propriétés trémorigènes de ces composés) (Gallagher et al., 1981).

Dans les années suivantes beaucoup de découvertes sont réalisées : la structure du pénitrème A est déterminée en 1983 (Jesus et al., 1983). Un an plus tard celle du lolitrème B l'est également ce qui permet enfin de déterminer l'étiologie du ray-grass staggers (Gallagher et al., 1984). Peu auparavant la structure de l'aflatrème et de la paspalinine avaient été déterminées (Gallagher et al., 1980). La description de l'espèce *Neotyphodium lolii* comme endophyte et la découverte de la paspaline produite par *Claviceps paspali* ont, elles, permis de trouver la cause du Paspalum staggers (Cole et al., 1977).

Actuellement une vingtaine de mycotoxines dont la structure a été déterminée sont répertoriées comme trémorigènes. Néanmoins avec l'amélioration des capacités analytiques, et en particulier grâce aux procédés ayant recours à une spectroscopie de masse couplée à une chromatographie liquide (LC-MS), d'autres mycotoxines sont aujourd'hui suspectées d'avoir un potentiel trémorigène (Evans and Gupta, 2018) En effet des analyses effectuées sur des échantillons ayant été responsables d'intoxications à dominante nerveuse ont révélé la présence d'autres mycotoxines en plus de celles déjà répertoriées comme neurotoxiques. Ces dernières étaient soit inconnues comme le secopénitrème D (Moldes-Anaya et al., 2011), ou déjà connues mais non soupçonnées d'être dotées d'une toxicité nerveuse telles que l'ergométrine, l'ergine (Uhlig et al., 2009) ou la patuline (Sabater-Vilar et al., 2004). Cependant le rôle de chacune de ces mycotoxines dans les cas d'intoxication n'a pas pu être évalué en raison de la présence conjointe d'au moins un autre métabolite neurotoxique dans les échantillons analysés. De plus la très grande variété d'espèces de champignons, ainsi que la très importante diversité de mycotoxines présentes dans les échantillons alimentaires rend complexe le fait de relier une molécule à son effet biologique. Enfin la détection d'une moisissure ou d'une de ses toxines dans un substrat alimentaire ou un échantillon biologique, ne signifie pas forcément non plus sa responsabilité dans le cadre d'une intoxication.

3. Discussions autour de certaines mycotoxines

Pour tous les métabolites secondaires fongiques considérés comme des mycotoxines trémorigènes (Tableau I) des expérimentations ont permis de démontrer leur effet neurotoxique pouvant être à l'origine de trémulations musculaires généralisées ou de convulsions chez l'animal ou l'homme (Evans and Gupta, 2018). Ces composés, à l'exception de la roquefortine C, sont unanimement reconnus comme des mycotoxines trémorigènes dans la littérature. Cependant certaines molécules proches chimiquement ou structurellement de ces derniers ne se sont pas toujours révélées comme trémorigènes après expérimentation, en particulier la roquefortine C (Tiwarly et al., 2009), la paspalacine (Knaus et al., 1994) et l'acide cyclopiazonique (Nishie et al., 1985).

La classification de la roquefortine C au sein des mycotoxines trémorigènes est débattue. En effet différentes publications lui attribuent une activité neurotoxique basée sur les travaux de Frayssinet et Frayssinet (cité par Scott and Kennedy, 1976). Dans cette étude des injections intrapéritonéales de roquefortine C ont été réalisées chez des souris, les résultats ont montré : l'apparition de contractions musculaires et d'ataxie à une dose de 10 mg/kg ; de prostrations et de convulsions souvent suivie de la mort des animaux à doses plus élevées de 50 à 100 mg/kg et une DL₅₀ (dose létale médiane) estimée à 15-20 mg/kg (cité par Tiwarly et al., 2009). Cependant les détails de cette expérimentation n'ont jamais été publiés. Une autre étude a tenté de retrouver expérimentalement ces résultats en injectant

cette fois de la roquefortine C pure par voie intrapéritonéale chez des souris. Une DL₅₀ entre 169 et 184 mg/kg a alors été déterminée soit une valeur de l'ordre de 10 fois supérieure à la précédente, et les symptômes relevés se composaient de prostrations, d'anorexies, de jetages nasaux translucides et de morts, mais aucun tremblement ou convulsion n'a été observé (Arnold et al., 1978). Des paralysies ont également été rapportées chez des bovins suite à la consommation de céréales contaminées par de la roquefortine C (Hägglom, 1990). Enfin une expérimentation menée sur des poulets nourris avec de la roquefortine C a démontré l'apparition en moins de 6 h de dépression, d'ataxie, de décubitus latéral et de mort (Wagener et al., 1980).

Au bilan il semblerait donc que bien que la roquefortine C ait une neurotoxicité aigüe, elle peut être responsable de l'apparition de paralysies et d'ataxie chez différentes espèces. Néanmoins à l'exception de quelques travaux peu détaillés, il n'a jamais été prouvé expérimentalement qu'elle puisse être à l'origine de tremblements ou de convulsions, sa classification au sein des mycotoxines trémorigènes ne fait donc pas l'objet d'un consensus dans la littérature à ce jour.

3) Synthèse

1. Caractéristiques générales des voies de synthèse des mycotoxines

Le métabolisme primaire des moisissures est fondamentalement identique pour tous les représentants de ce groupe (Tabuc, 2007). Peu de variations sont ainsi observées entre les réactions chimiques permettant la synthèse des molécules organiques nécessaires au fonctionnement physiologique des cellules des mycètes (Gauthier, 2016a). Au contraire le métabolisme secondaire est très dépendant de l'espèce et de la souche de champignon considérée, ainsi que des paramètres environnementaux du milieu extérieur (Gauthier, 2016a; Tabuc, 2007). Il permet la synthèse d'une très grande variété de métabolites au sein des innombrables souches et espèces de moisissures, dont les mycotoxines font partie. Les molécules produites partagent néanmoins souvent des similarités structurales ou fonctionnelles, liées à des voies de biosynthèse partiellement communes. On regroupe d'ailleurs parfois les mycotoxines par familles en fonction de leurs effets ou de leurs formules chimiques, bien qu'elles puissent être synthétisées par des espèces de champignons différentes.

Les voies de biosynthèse des mycotoxines sont longues et complexes, elles font intervenir des catalyseurs enzymatiques spécifiques à certaines réactions chimiques et dont l'activité est souvent influencée par les paramètres environnementaux. La mise au point de schémas métaboliques décrivant les voies de biosynthèse d'un métabolite secondaire a notamment été rendue possible grâce à l'usage de précurseurs du métabolisme, d'inhibiteurs enzymatiques (Luchese and Harrigan, 1993) et à l'étude de mutants ayant subi des délétions de séquences génétiques (Nicholson et al., 2015). Néanmoins la connaissance exacte des voies métaboliques de synthèse n'est connue que pour un nombre très restreint de métabolites secondaires fongiques.

Les mycotoxines forment un groupe structural et fonctionnel hétérogène, mais il est possible de les regrouper en fonction de leur origine. Il existe en effet trois origines biosynthétiques principales pour la synthèse de ces molécules. Celles-ci sont présentées sur la Figure 19 suivante :

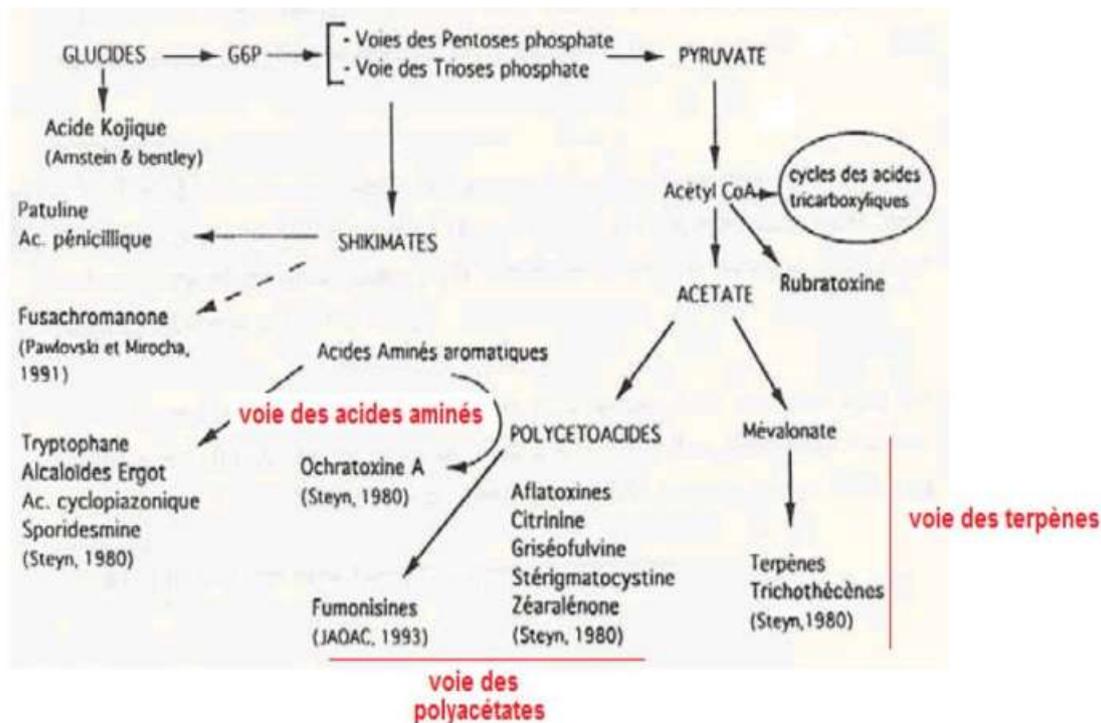


Figure 19 : Voies de biosynthèses principales des mycotoxines (issu de Gauthier, 2016a)

-La voie des acides aminés : des acides aminés aromatiques entrent dans la synthèse de ces composés, ainsi que d'autres molécules dont notamment des polyacétates. La roquefortine C et les tryptoquivalines ont notamment pour origine cette voie de biosynthèse (Tannous, 2015).

-La voie des polyacétates : ces composés sont à l'origine issus de la condensation de différentes molécules dérivées de l'acide acétique. Parmi les mycotoxines célèbres pour leur toxicité et provenant de cette voie métabolique on retrouve les aflatoxines, les ochratoxines, la citrinine et la patuline (Gauthier, 2016a).

-La voie des terpènes : ces molécules sont initialement issues de l'assemblage de plusieurs composés d'isoprène. Parmi les mycotoxines trémorigènes, les pénitrèmes, l'aflatrème, les lolitrèmes proviennent notamment de cette synthèse (Tannous, 2015).

2. Caractéristiques spécifiques de la synthèse des mycotoxines trémorigènes

a) La biosynthèse du pénitrème A

Les mycotoxines trémorigènes tels que les aflatrèmes, les Janthitrèmes, les lolitrèmes, les paspalitrèmes et les pénitrèmes dérivent tous de la paspaline. Cette molécule est un composé intermédiaire dans leur voie de biosynthèse, ils appartiennent au groupe des « indoles diterpènes dérivés de la paspaline » (Kozák et al., 2019). C'est en 2001 que le premier groupe de gènes nécessaire à la synthèse d'un indole diterpène a été identifié, il s'agissait des 17 gènes responsables de la synthèse de paxilline chez l'espèce *Penicillium Paxilli* (Young et al., 2001). Ce cluster de gènes est présenté dans la Figure 20 suivante :

Gène	Fonction
<i>paxO</i>	Oxidoreductase
<i>paxD</i>	DMAT synthase
<i>paxQ</i>	P450 monooxygenase
<i>paxP</i>	P450 monooxygenase
<i>paxC</i>	Prenyl transferase
<i>paxM</i>	Monooxygenase
<i>paxG</i>	GGPP synthase
<i>paxU</i>	Unknown
<i>paxT</i>	Transporter
<i>paxV</i>	Unknown
<i>paxW</i>	Unknown
<i>paxH</i>	Dehydrogenase
<i>paxX</i>	Unknown
<i>paxR</i>	Transcription factor
<i>paxS</i>	Transcription factor
<i>paxY</i>	Glucanosyltransferase
<i>paxM</i>	Monooxygenase

Figure 20 : Cluster de gènes de la paxilline chez l'espèce *Penicillium Paxilli* (d'après Young et al., 2001)

Le nom de ces différents gènes leur a été donné suite à cette identification, ils codent chacun pour une enzyme spécifique, à action précise lors de la voie métabolique aboutissant à la production de la paxilline. Depuis cette découverte, 9 autres clusters de gènes nécessaires à la synthèse de 9 composés des indoles diterpènes ont été découverts (Ludlow et al., 2019), dont notamment ceux des mycotoxines présentées dans le Tableau II suivant:

Tableau II : Indoles diterpènes avec un cluster de gènes identifié dans une espèce de moisissure (Kozák et al., 2019; Ludlow et al., 2019)

Mycotoxine	Espèce sécrétrice	Auteurs de l'étude
Aflatrèmes	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	(Nicholson et al., 2015) (Zhang et al., 2004)
Lolitrèmes	<i>Epichloe festucae</i>	(Saikia et al., 2012) (Young et al., 2006)
Pénitrèmes	<i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium simplicissimum</i>	(Liu et al., 2015) (Nicholson et al., 2015)
Paspalitrèmes	<i>Claviceps paspali</i>	(Kozák et al., 2019)
Paxilline	<i>Penicillium paxilli</i>	(Scott et al., 2013)
Shearinines	<i>Penicillium janthinellum</i>	(Nicholson et al., 2015)
Terpendoles	<i>Tolypocladium album</i>	(Motoyama et al., 2012)

Tous ces groupes de séquences codantes comprennent des gènes orthologues des gènes PaxB, PaxC, PaxG, PaxM qui sont indispensables dans la synthèse de la paspaline (Ludlow et al., 2019). En effet la synthèse de la paspaline étant préalablement nécessaire, toutes les réactions chimiques permettant la synthèse de cet intermédiaire sont réalisées par un ensemble enzymatique codé par un groupe de gènes orthologues dont la séquence varie peu entre les différents génomes de champignons (Ludlow et al., 2019)

La synthèse des composés appartenant au groupe des indoles diterpènes dérivant de la paspaline, peut être divisée en 2 parties : une voie de biosynthèse commune permettant la formation de la paspaline, et des voies de synthèse variées à partir de ce composé.

-La synthèse de la paspaline :

La structure moléculaire dérivant d'un diterpène cyclique provient initialement de la molécule de farnesyl diphosphate, qui suite à l'action de l'enzyme GGPP synthase PaxG* (* : ou d'une enzyme issue d'un gène orthologue pour une autre espèce que *Penicillium Paxilli*) permet la formation de geranylgeranyl diphosphate (Tagami et al., 2013).

Le groupe indole est le plus souvent issu de la molécule d'indole-3-glycerol phosphate, elle-même provenant de la voie des acides aminés et dérivant d'un précurseur du tryptophane (Byrne et al., 2002). Le carbone C3 du groupe subit une prenylation catalysé par la prenyl transferase PaxC*, ce qui aboutit à l'élimination d'une molécule de glyceraldéhyde 3-phosphate et à la synthèse de 3-Geranylgeranyl indole. L' indole-3-glycerol phosphate est le substrat préférentiel de la prenylation, une étude in vitro a cependant montré que sous certaines conditions in vitro le tryptophane pouvait également être utilisé comme substrat par PaxC (Tagami et al., 2013).

Le 3 Geranylgeranyl indole subit ensuite une époxydation par la monooxygénase PaxM* entraînant la formation de 10(11) epoxygeranylgeranyl indole. Celui-ci est cyclisé en emindole SB par PaxB*. Dernièrement un nouvel enchainement d'une époxydation et cyclisation, à nouveau catalysé respectivement et successivement par paxM* et PaxB* permet la synthèse de la paspaline (Tagami et al., 2013; Van de Bittner et al., 2018).

Le groupe de gènes nécessaire pour la synthèse de la paspaline, n'est donc composé que de 4 gènes (PaxG, PaxB, PaxC, PaxM)* chez la majorité des espèces productrices de ce composé. Cette biosynthèse est représentée sous forme de schéma sur la Figure 21 ci-dessous :

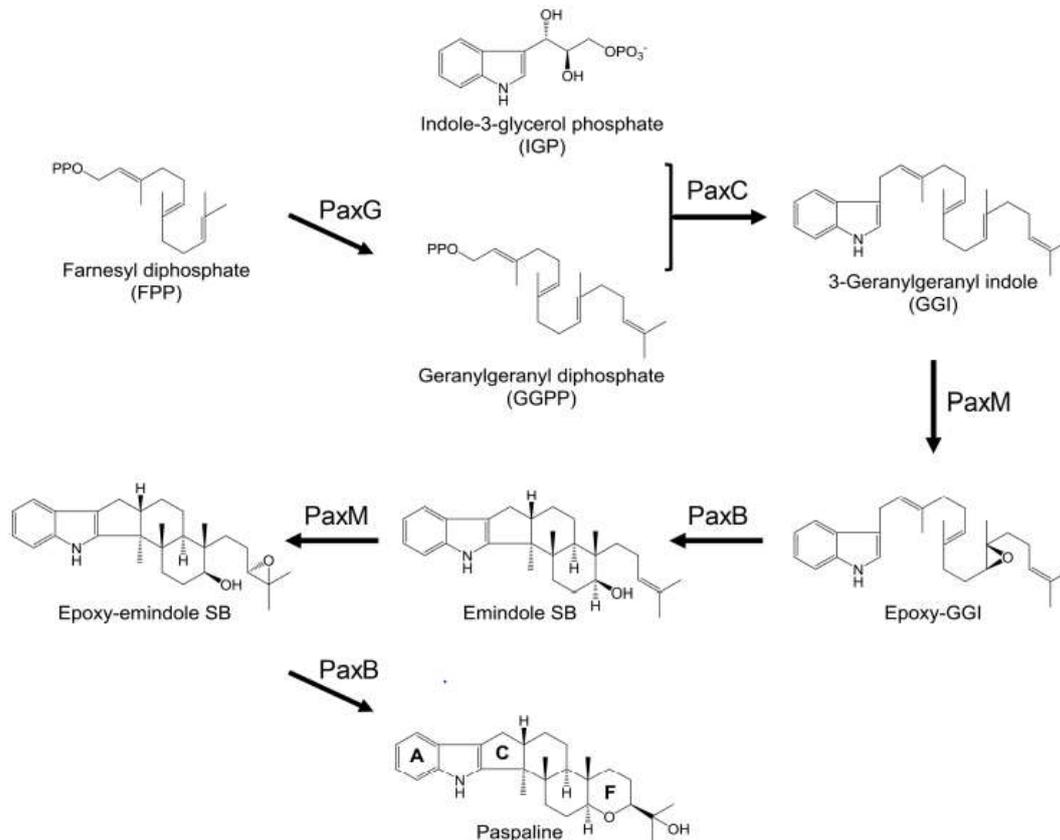


Figure 21 : Biosynthèse de la paspaline chez *Penicillium Paxilli* (issu de Kozák et al., 2019)

-La biosynthèse des différents indoles diterpènes à partir de la paspaline :

Différentes classifications des indoles diterpènes dérivés de la paspaline sont mentionnées dans la littérature, Sings et ses collaborateurs ont proposé une classification en six groupes basées sur la structure des composés : paspalanes, aflatrèmeanes, pénitrèmeanes, Janthitrèmeanes, lolitrèmeanes et nodulspranes (Sings and Singh, 2003), alors que d'auteurs ont préféré classer ces composés en 9 sous-groupes : les pénitrèmes, Janthitrèmes, lolitrèmes, aflatrèmes, terpendoles, shearinines, sulpines, paxilline et le groupe paspaline/paspalinine/paspalitrèmes (Parker and Scott, 2004).

Les voies de biosynthèse des différentes mycotoxines divergent après la synthèse de la paspaline, les composés subissent alors une succession de réactions variées dont notamment des oxydations, réductions et des prenylation (Kozák et al., 2019). Ces voies sont à l'origine de l'importante diversité des indoles diterpènes, celles-ci diffèrent les unes des autres en raison de gènes codant pour des enzymes uniquement présentes chez certaines moisissures. Ainsi bien qu'il existe des séquences orthologues entre certaines moisissures sécrétrices de mycotoxines trémorigènes, on trouve également des gènes spécifiques à une ou plusieurs de ces espèces fongiques.

Pour une mycotoxine donnée, émise par une espèce fongique précise, il est possible d'identifier un ensemble de séquences codantes pour des enzymes nécessaires à sa synthèse. Les représentations de la dizaine de clusters de gènes, nécessaires à la synthèse d'un indole diterpène dérivant de la paspaline, identifiés à ce jour sont présentées sur la Figure 22 ci-dessous :

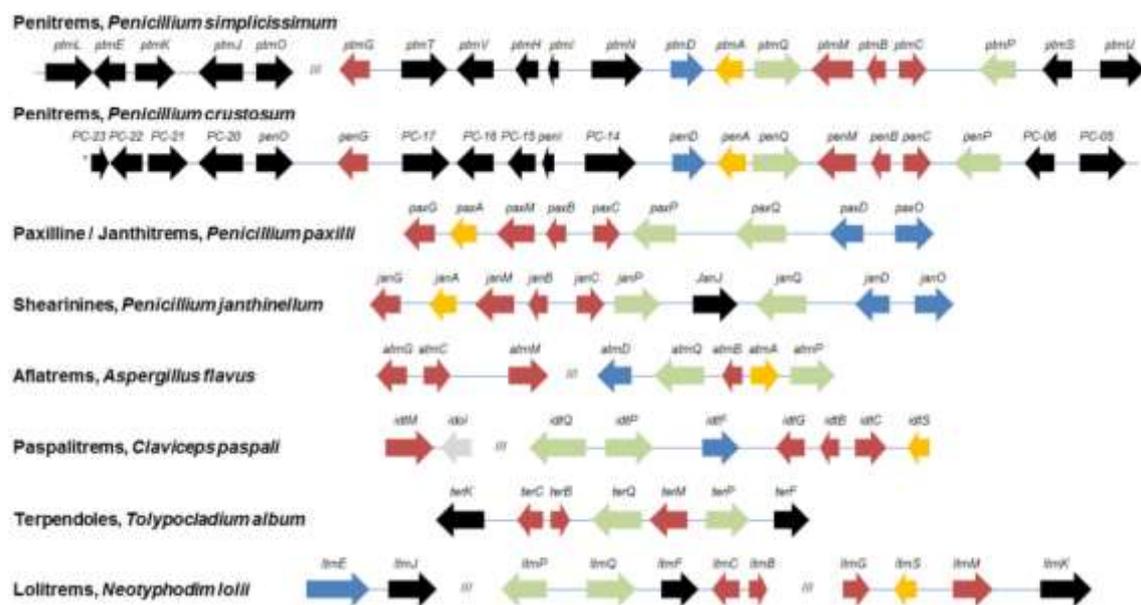


Figure 22 : Clusters de gènes impliqués dans la biosynthèse d'indoles diterpènes (issu de Kozák et al., 2019)

Comme en témoigne ce schéma le nombre de séquences génétiques nécessaires à la synthèse d'une mycotoxine est variable. Certains groupes de gènes sont donc plus complexes que d'autres, et de ce fait les différentes voies de biosynthèse font donc intervenir un nombre variable d'enzymes.

La production des pénitrèmes chez *Penicillium simplicissimum* ou *Penicillium crustosum* est à ce jour la synthèse nécessitant le plus d'enzymes différentes parmi les indoles diterpènes dérivés de la paspaline (Kozák et al., 2019). La biosynthèse de pénitrème A requiert en effet 17 enzymes (Liu et al.,

2015) et 20 gènes différents (Kozák et al., 2019; Nicholson et al., 2015) chez ces 2 espèces de moisissures, ce qui est relativement important par rapport aux autres mycotoxines tels que les Janthitrèmes nécessitant un panel de 9 séquences génétiques uniquement (Nicholson et al., 2015).

Une classification simplifiée de la synthèse des différents indoles diterpènes à partir de la paspaline permet de les séparer en 3 branches distinctes, en fonction des premières modifications chimiques subies par ce composé. Celle-ci est présentée sur la Figure 23 ci-après. Nous ne détaillerons avec précision que la synthèse du pénitrème A, en raison de son implication dans des intoxications canines.

-La biosynthèse du pénitrème A à partir de la paspaline :

La paspaline est premièrement modifiée avec une élimination du groupe méthyle en C12 et la formation d'un groupe cétone en C10, ces réactions sont favorisées par l'action de la cytochrome P450 monooxygénase PaxP* et aboutissent à la formation de 13-Desoxypaxilline. Puis successivement PaxQ* catalyse l'hydroxylation en C13 de cet intermédiaire pour aboutir à la synthèse de paxilline (McMillan et al., 2003).

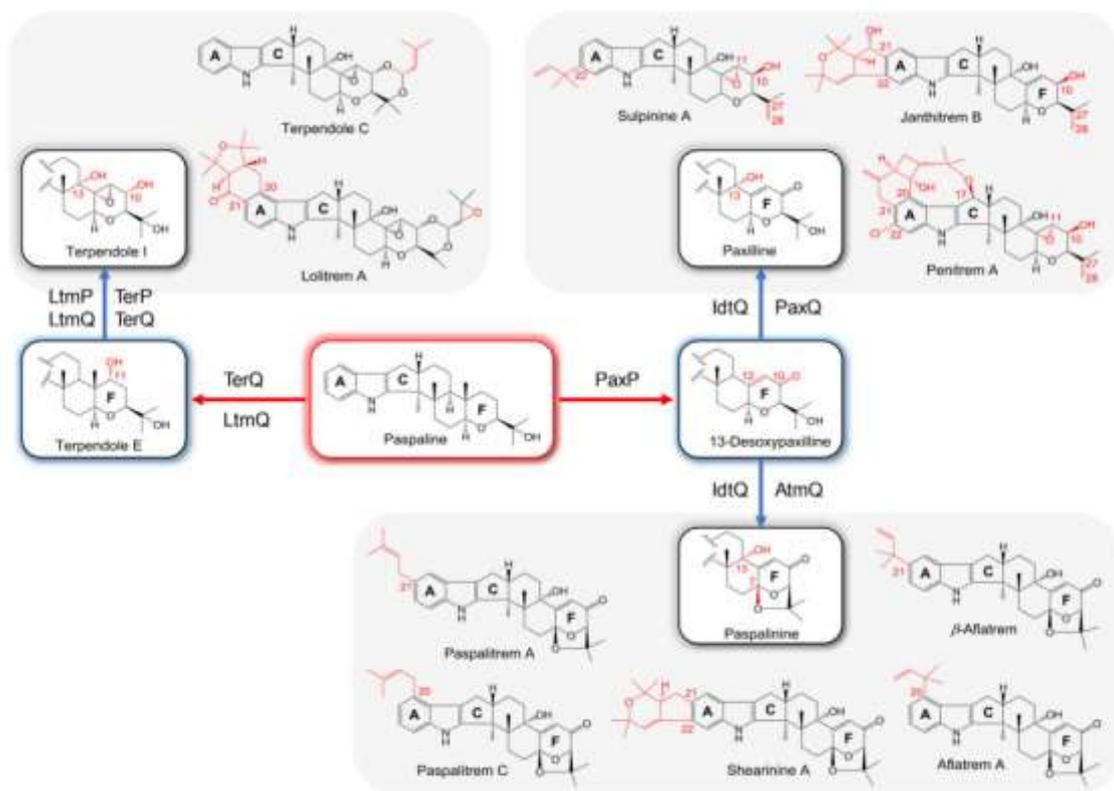


Figure 23 : Biosynthèse des indoles diterpènes dérivant de la paspaline (issu de Kozák et al., 2019)

La fonction cétone en C10 de la paxilline est ensuite réduite formant alors un alcool grâce à l'action de l'enzyme PtmH, suite à cela la diméthyl transférase PtmD favorise une prénylation α sélective en C20. Le composé formé subit alors une acétylation-élimination sous l'action de PtmV et PtmI pour aboutir à la production de 20-prenylpenijanthrine avec une terminaison alcane. Cependant l'ordre de ces 3 réactions catalysées respectivement par les enzymes PtmD-PtmV-PtmI pourrait être soumis à des variations selon certains auteurs (Liu et al., 2016a).

La synthèse se poursuit en 3 étapes :

- Premièrement une γ -hydroxylation de la chaîne latérale prényle par PtmO précède un couplage avec une molécule de diméthylallyl diphosphate, lors d'une cyclisation cationique initiée par une prenylation. Cette cyclisation par ajout de molécule est catalysée par l'enzyme Ptm E diméthylallyl transférase et permet la formation du groupe bicyclo[3.2.0]heptane (Kozák et al., 2019; Liu et al., 2015). Cette étape de cyclisation est représentée sur la Figure 24 suivante.

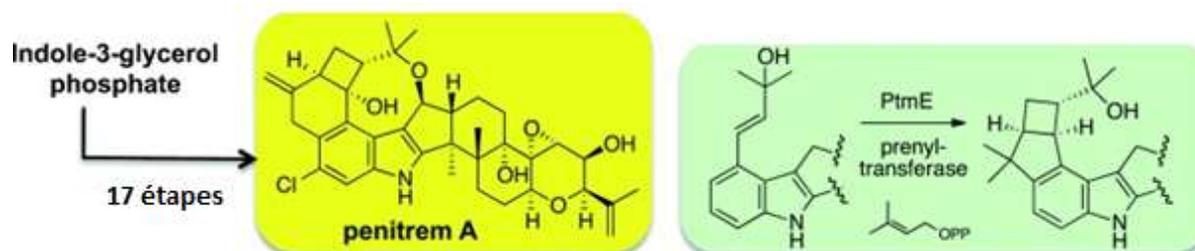


Figure 24 : Formation du cycle bicyclo [3.2.0] heptane au cours de la synthèse du pénitrème A (d'après Liu et al., 2016b)

-Dans un second temps une expansion oxydative de cycle est permise par la PtmK cytochrome P450 et aboutit à la formation d'un groupe bicyclo[4,2,0]octane ; suite à quoi une autre enzyme cytochrome P450, PtmU, permet la formation d'un éther cyclique à 8 atomes (dont 7 atomes de carbones et 1 d'oxygène) en générant un pont éther entre la fonction alcool de la chaîne préalablement hydroxylée et C17 (Kozák et al., 2019). La structure tricyclique caractéristique du squelette des pénitrèmes est alors formée (Liu et al., 2015).

- Enfin une dernière série de différentes réactions termine cette voie de synthèse : une époxydation entre C11 et C12 catalysée par PtmL, une chlorination en C22 et une hydroxylation d'un atome de carbone du bicyclo[4,2,0]octane aboutissent finalement à la synthèse de pénitrème A (Liu et al., 2015).

Les nombreuses enzymes actives dans les voies de biosynthèse des indoles diterpènes, sont dotées d'une flexibilité de substrats et de produits. Celle-ci a une grande importance biologique, car in vivo les différentes espèces de moisissures possèdent toutes un panel d'enzymes appartenant à différentes voies métaboliques. La diversité de celles-ci est limitée par le génome de chaque espèce et les régulations liées à l'influence de l'environnement sur l'expression des gènes et l'activité de des enzymes. Ces groupes de biocatalyseurs n'interviennent pas dans une seule, mais dans diverses voies métaboliques. Cela a pour conséquence que le métabolisme secondaire des moisissures sécrétrices de mycotoxines trémorigènes n'est pas constitué d'une multitude de voies métaboliques indépendantes, mais d'un véritable réseau de voies de biosynthèses connectées les unes aux autres grâce à la flexibilité des enzymes. Ceci explique que les champignons producteurs de mycotoxines trémorigènes soient souvent capables de produire plusieurs composés appartenant à ce groupe. Le pénitrème A et la roquefortine C sont par exemple souvent détectés conjointement dans des prélèvements biologiques issus des chiens intoxiqués, suite à l'ingestion de noix ou aliments moisissés (Tiway et al., 2009).

Ce réseau interconnecté, d'intermédiaire du métabolisme des indoles diterpènes dérivant de la paspaline, explique d'ailleurs les différentes classifications possibles des composés, souvent regroupés sur des critères structuraux, mais qui peuvent être issus de précurseurs différents et converger en des molécules de constitution relativement proches. Par exemple le groupe des Janthitrèmeanes inclut les Janthitrèmes et les shearinines respectivement dérivés de la paxilline et de la paspalinine, et donc non issus de la même grande branche de biosynthèse des indoles diterpènes dérivant de la paspaline (Kozák et al., 2019).

b) La biosynthèse de la roquefortine C

La synthèse des dicétopipérazine est moins bien connue que celle des pénitrèmes, la roquefortine C en est cependant le composé le plus étudié en raison de son importance biologique (Gu et al., 2013). Deux études ont démontré l'implication de 7 gènes différents dans la biosynthèse de la roquefortine C et de la méléagrine chez l'espèce *Penicillium chrysogenum* (Ali et al., 2013; García-Estrada et al., 2011). Bien qu'abondamment synthétisée par *Penicillium roqueforti*, aucun groupe de gènes responsables de la synthèse de roquefortine C n'a été identifié à ce jour chez cette moisissure.

Ces 7 séquences codantes ainsi que la biosynthèse de cette mycotoxine ont été essentiellement déterminées par la formation de mutants enzymatiques déletés (Ali et al., 2013; García-Estrada et al., 2011) et sont respectivement représentées sur les Figures 25 et 26 ci-présentes :

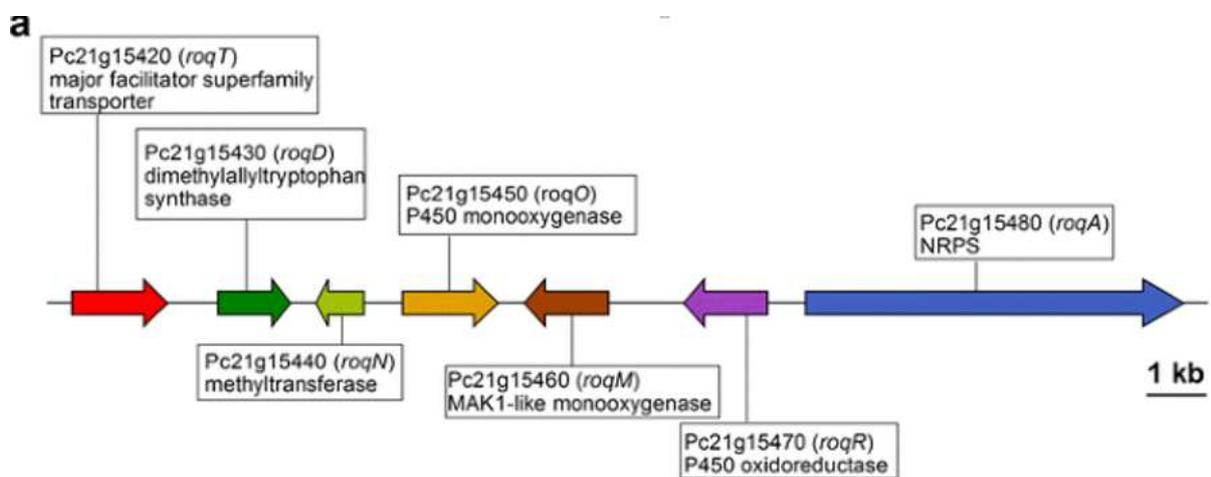


Figure 25 : cluster de gènes responsables de la synthèse de la roquefortine C et de méléagrine chez l'espèce *Penicillium chrysogenum* (issu de Gu et al., 2013)

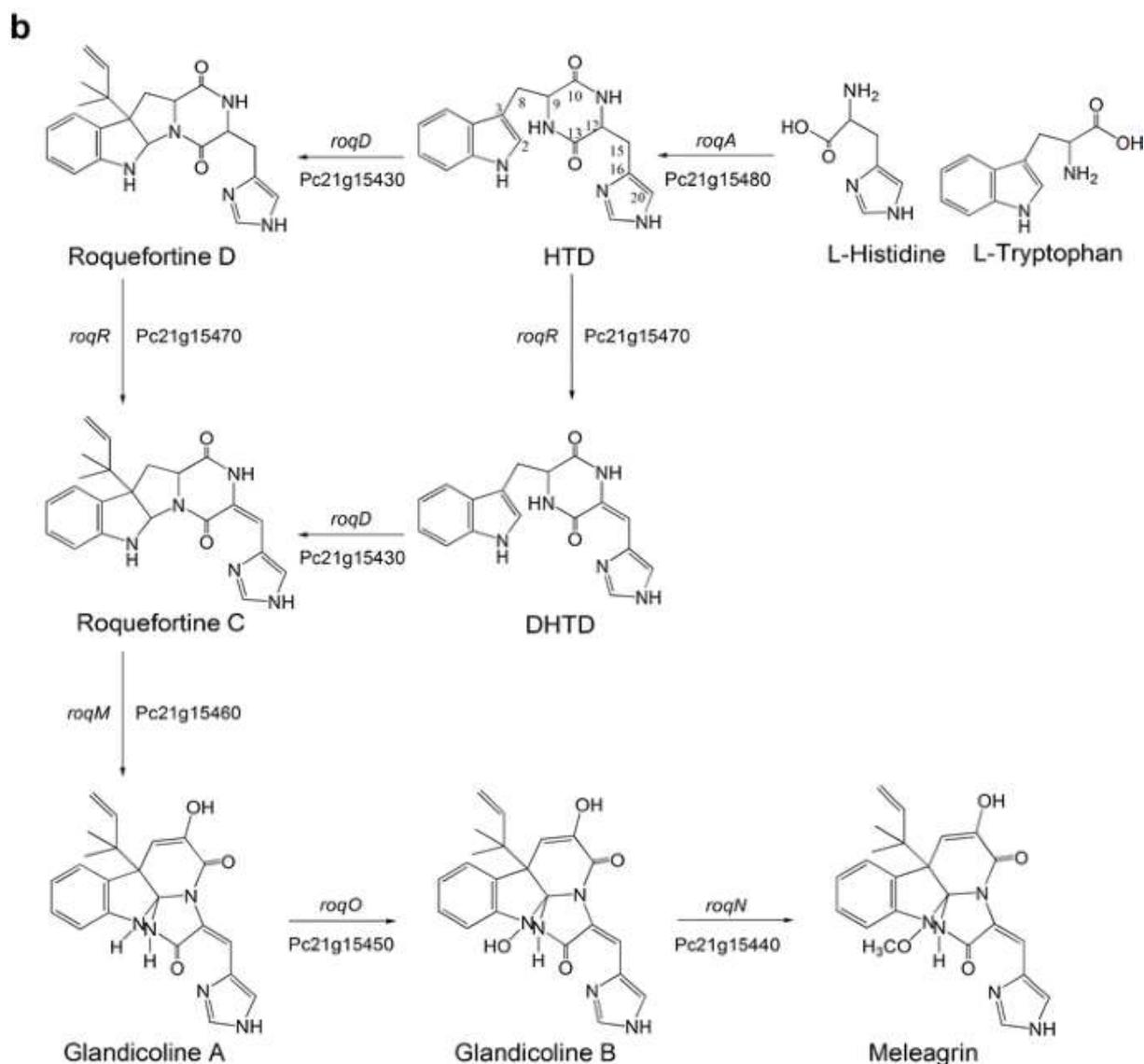


Figure 26 : Biosynthèse de la roquefortine C chez *Penicillium chrysogenum* (issu de Gu et al., 2013)

La structure de la roquefortine C résulte initialement de l'assemblage de 2 acides aminés : le L-tryptophane et la L-histidine, L faisant référence à la forme lévogyre de ces acides aminés. L'enzyme RoqA est une cyclodipeptide synthase non ribosomique contenant 2 sites d'adénylations, elle permet la condensation du tryptophane et de l'histidine en une dicétopipérazine nommée hystidyltryptophanyldicétopipérazine (HTD). Ce composé peut ensuite subir une prenylation en C3 catalysée par RoqD codant pour une dimethylallyltryptophane synthase, ce qui aboutit à la synthèse de roquefortine D, par intégration d'une molécule de dimethylallyl-pyrophosphate issue elle-même de la voie de synthèse de l'acide mévalonique. Simultanément à cette réaction RoqD permet la formation d'un cycle supplémentaire dans la molécule en reliant C2 et N14. L'étape suivante de la synthèse consiste en une oxydation des carbones C12 et C15 par la P450 oxydoréductase RoqR, qui permet alors la formation de la roquefortine C. Une autre voie de biosynthèse est possible entre l'HTD et la roquefortine C, en effet l'ordre de succession des enzymes RoqD et RoqR n'est pas absolu. Dans la première voie décrite RoqD agit avant RoqR, si l'inverse se produit : alors l'HTD est oxydé par RoqR en dehydrohistidyltryptophanyldicetopiperazine (DHTD) qui subit ensuite l'addition de dimethylallyl-

pyrophosphate et la cyclisation entre C2 et N14 grâce à l'action de RoqD, ce qui aboutit également à la synthèse de roquefortine C (Ali et al., 2013; García-Estrada et al., 2011).

Les autres enzymes, codées par le groupe de gènes identifié, interviennent dans la synthèse de méléagrine pour 3 d'entre elles (RoqM, RoqO, RoqN), et RoqT est un transporteur impliqué dans la sécrétion extracellulaire des dicétopipérazines (Ali et al., 2013).

Au terme de la description des voies de biosynthèse du pénitrème A et de la roquefortine C, il faut souligner que chez les espèces de champignons où elles sont décrites, la synthèse de pénitrème A est bien plus longue et complexe que celle de la roquefortine C. Les enzymes intervenant dans la formation de ces 2 mycotoxines sont différentes, néanmoins étant donné la ressemblance structurale de ces 2 composés et la flexibilité de substrats des enzymes il n'est pas exclu que des interactions aient lieu entre ces 2 voies métaboliques.

4) Pharmacocinétique

1. Absorption

a) Voie orale

Aucune étude sur l'absorption par voie orale du pénitrème A et de la roquefortine C n'a été menée chez le chien. Cependant l'occurrence d'intoxications naturelles de chiens suite à la consommation d'aliments altérés, avec preuve analytique de la présence pénitrème A ou de roquefortine C dans le contenu digestif et dans différents organes de ces chiens (Eriksen et al., 2010), implique l'existence une absorption digestive de ces mycotoxines trémorigènes, avec passage de ces molécules dans la circulation générale. Leurs biodisponibilités sont en revanche inconnues. Une étude a été menée pour évaluer les effets de l'administration de pénitrème A par voie orale chez des souris. Les résultats ont suggéré une absorption lente et incomplète du pénitrème A, la plus grande concentration dans les organes (foie, reins, cerveau) de cette mycotoxine a été obtenue une heure après ingestion ce qui suggérait une distribution rapide au sein de l'organisme (Moldes-Anaya et al., 2012). De plus des cas cliniques d'intoxication avec un délai d'apparition des symptômes de l'ordre d'une demi-heure ont été rapportés (Eriksen et al., 2010).

En définitive bien que leur absorption puisse être limitée, certaines des mycotoxines trémorigènes et notamment le pénitrème A ont la capacité d'atteindre rapidement le système nerveux central, et de causer des troubles nerveux cliniquement observables en moins d'une demi-heure.

b) Autres voies

L'absorption des mycotoxines trémorigènes par voie intramusculaire n'a fait l'objet d'aucune expérimentation rapportée dans la littérature. Chez le chien, seule une étude a démontré l'apparition de troubles nerveux suite à des injections intrapéritonéales de pénitrème A, prouvant bien l'absorption et la distribution de cette mycotoxine. Au cours de ces expérimentations des tremblements sont apparus en moins de 30 minutes chez les animaux ayant reçu une dose suffisante pour leur induction et les plus rapides ont été observés 10 minutes après injection (Hayes et al., 1976). Ces résultats suggérait également une distribution rapide du pénitrème A dans l'organisme, et confirmaient à nouveau sa capacité à franchir la barrière hémato encéphalique.

2. Distribution

Suite à une intoxication naturelle d'un chien, les pénitrimères A, B, D et E ont déjà été retrouvés dans le contenu digestif, le foie, les reins et le cerveau de l'animal. Lors de cette même analyse de la roquefortine C a été détectée dans les mêmes organes à l'exception du système nerveux (Eriksen et al., 2010). Ceci constituait donc une nouvelle preuve de la répartition systémique dans l'organisme de ces 2 mycotoxines, et de la capacité du pénitrimère A à franchir la barrière hémato-méningée. Bien que présents dans différents organes ces 2 composés n'y ont pas été retrouvés à la même concentration. De plus malgré la capacité du pénitrimère A à pénétrer dans le système nerveux, sa concentration y était plus faible que dans les reins, le foie et le tube digestif des animaux intoxiqués (Moldes-Anaya et al., 2011). Enfin l'absence de roquefortine C dans les tissus nerveux cérébraux lors de certaines intoxications, simultanée à la détection des différents pénitrimères (A, B, D, E) et thomitrimères dans ces mêmes organes, rapportée par Eriksen et ses collaborateurs en 2010, pouvait être expliquée par des territoires ou des vitesses de distribution différents de ces mycotoxines trémorigènes malgré leurs faibles différences structurales.

3. Métabolisme, dégradation

Le pénitrimère A absorbé dans l'organisme est métabolisé par le foie (Moldes-Anaya et al., 2009), cette biotransformation hépatique a été étudiée en 2011 *in vitro* en utilisant des microsomes et des hépatocytes de rats et *in vivo* chez la souris (Moldes-Anaya et al., 2011). Plus récemment celle-ci a également fait l'objet d'expériences menées *in vitro* sur des microsomes de chiens (Uhlir et al., 2020).

Lors du premier passage hépatique pré systémique le pénitrimère A est en partie métabolisé en au moins 5 métabolites obtenus suite à des réactions de phase I, de plus une réaction de fonctionnalisation dépendante du cytochrome P450 a également lieu dans la paroi intestinale (Moldes-Anaya et al., 2011). Récemment une étude menée *in vitro* sur des microsomes hépatiques canins a permis de détecter 11 métabolites de phase 1 issus de la biotransformation du pénitrimère A, néanmoins les auteurs soulignaient la possibilité que ces composés puissent comporter 2 formes isomères de la même molécule. Les caractéristiques des métabolites détectés étaient effectivement très proches de celles identifiées dans l'étude de 2012, à l'exception d'un métabolite uniquement synthétisé chez les souris exposées au pénitrimère A (Uhlir et al., 2020). Les métabolites formés ont subi des réactions d'oxydation ce qui augmente en général leur hydrophilie, aucune trace de conjugaison témoignant d'une réaction de phase 2 n'a été observée sur ces molécules (Uhlir et al., 2020). Cette biotransformation hépatique du pénitrimère A a également été démontrée expérimentalement *in vivo* chez le mouton (Laws et al., 1987).

Malgré cette métabolisation le pénitrimère A a tout de même été retrouvé dans le foie, les reins et le cerveau d'animaux intoxiqués ce qui implique que sa dégradation hépatique n'est que partielle. La capacité de cette toxine à franchir la barrière hémato-encéphalique a été largement démontrée, mais aucun métabolite issu de sa biotransformation hépatique n'a pu être détecté dans le cerveau de souris intoxiqués avec cette mycotoxine, ce qui suggère fortement que la molécule de pénitrimère A est elle-même responsable de son effet neurotoxique (Moldes-Anaya et al., 2011).

Enfin un métabolisme hépatique de la roquefortine C n'a pas encore pu être démontré, mais a été suspecté par certains auteurs ayant remarqué que les molécules subissant un passage hépatique étaient plus polaires que la toxine initiale (Laws and Mantle, 1987).

4. Excrétion, réabsorption

Aucune publication sur l'excrétion du pénitrème A et de la roquefortine C n'existe chez le chien, en revanche celle-ci a été étudiée chez d'autres espèces. En effet lors d'expériences menées sur des moutons, intoxiqués par voie intraveineuse avec du pénitrème A marqué au carbone 14, Laws et ses collaborateurs ont démontré que l'élimination des métabolites formés à partir de ce toxique était quasiment exclusivement biliaire. Ainsi 97 % des molécules radio marquées étaient présentes dans la bile 4 h après injection (Laws et al., 1987). De plus il a été démontré que le pénitrème A était 3 fois plus présent dans le foie que dans les reins de souris intoxiqués avec cette mycotoxine (Moldes-Anaya et al., 2009). L'élimination du pénitrème A est donc très majoritairement biliaire (Evans and Gupta, 2018; Uhlig et al., 2020). L'élimination de la roquefortine C a elle été mesurée chez des rats intoxiqués par voie orale ou intrapéritonéale (Laws and Mantle, 1987) les résultats ont montré qu'un jour après administration 3,6 à 5,7 % de la roquefortine C était excrétée dans les urines et 45 à 76 % dans les selles (cité par Tiwary et al., 2009).

Bien que majoritairement biliaire, l'élimination de la roquefortine C est aussi urinaire, la présence de cette mycotoxine dans de l'urine d'un chien intoxiqué a effectivement déjà été prouvée grâce à une analyse associant une chromatographie liquide et une spectroscopie de masse en tandem (LC-MS/MS) (Tiwary et al., 2009). Au contraire le pénitrème A n'a pas été mis en évidence dans l'échantillon urinaire analysé lors de cette étude. Aucune publication ne fait mention de sa détection sur l'urine d'un chien intoxiqué, seule une étude a permis sa détection dans un échantillon urinaire artificiellement enrichi avec du pénitrème A afin de montrer l'efficacité d'un protocole analytique (Tor et al., 2006). Ceci démontre qu'il est possible de mettre en évidence l'exposition d'un chien à la roquefortine C par analyse d'un échantillon urinaire. Cette conclusion ne peut pas encore être mentionnée pour le pénitrème A mais il est probable qu'une faible excrétion urinaire de cette molécule toxique existe.

L'existence d'un cycle entéro-hépatique pour ces 2 mycotoxines n'a pas été démontrée à ce jour, certains auteurs suspectent qu'il pourrait être responsable de la durée de rémission des symptômes de plusieurs jours observée lors de certaines intoxications naturelles (Puschner, 2002), cependant celui-ci pourrait aussi être expliqué par les dommages cellulaires initialement causés par ces métabolites. Cette réabsorption intestinale est théoriquement plausible étant donné l'élimination majoritairement biliaire de ces mycotoxines, des études sur le métabolisme et l'excrétion de ces toxines chez le chien sont encore nécessaires pour affirmer ou infirmer l'existence de ce cycle entéro-hépatique hypothétique.

Dernièrement des études menées sur le verruculogène, une dicétopiperazine structurellement proche de la roquefortine C et avec un forte activité trémorigène (Laws et al., 1987), ont suggéré de potentielles propriétés toxicocinétiques du pénitrème A et de la roquefortine C. En effet cette toxine subit elle aussi une importante métabolisation hépatique, et les métabolites formés sont également majoritairement éliminés par voie biliaire (Perera et al., 1982). Des expérimentations ont démontré l'absence de toxicité cumulative de cette mycotoxine (Peterson et al., 1982), ce qui irait à l'encontre de l'existence d'un cycle entéro-hépatique pour cette toxine. De plus il a été démontré que la toxicité du verruculogène pouvait varier en fonction de l'âge et de l'espèce de l'animal intoxiqué : sa toxicité serait ainsi plus importante chez des jeunes agneaux par rapport à des ovins adultes (Evans and Gupta, 2018), et les porcs seraient moins sensibles au pénitrème A et au verruculogène que les moutons (Peterson et al., 1982). Bien que non directement utilisables pour le pénitrème A et la roquefortine C dans l'espèce canine, ces résultats soulignent tout de même la possibilité d'une sensibilité différente à la toxicité de ces 2 composés en fonction de l'âge du chien, et ne sont pas en faveur de l'existence d'un cycle entéro-hépatique pour ces 2 métabolites.

La toxicocinétique des mycotoxines trémorigènes est donc encore majoritairement peu connue chez le chien, beaucoup d'informations peuvent en revanche être suspectées grâce aux études menées sur d'autres espèces animales. En 2020 une étude *in vitro* portant sur le métabolisme hépatique canin du pénitrem A a cependant permis d'extrapoler des résultats *in vitro* pour proposer des paramètres toxicocinétiques de ce composé chez le chien (Uhlig et al., 2020). Ces résultats présentés dans le Tableau III restent à confirmer *in vivo*, mais comme les autres publications ils suggèrent une absorption incomplète du pénitrem A.

Tableau III : Paramètres toxicocinétiques prédictifs du pénitrem A chez le chien, d'après les résultats d'une étude *in vitro* sur des microsomes hépatiques canins (d'après Uhlig et al., 2020)

Paramètre toxicocinétique	Valeur
Temps de demi-vie	21 min
Biodisponibilité maximale	57 %
Clairance sanguine	0,9 L/ (h*kg)
Clairance intrinsèque	0,0018 L/h
Clairance intrinsèque hépatique	1,6 L/ (h*kg)
Constante de déplétion	0.03 /min
Constante de réaction	12 µM

En termes de bilan, il est possible d'affirmer que le pénitrem A présente une absorption incomplète et que sa distribution dans l'organisme et notamment dans le foie, les reins et le cerveau est très rapide. Néanmoins celle-ci semble inégale en fonction des différents organes. Ce métabolite semble lui-même responsable de son effet neurotoxique et malgré un métabolisme hépatique important il reste en quantité suffisante pour induire des troubles nerveux. La présence d'un cycle entéro-hépatique pour cette molécule n'est pas démontrée à ce jour, mais semble possible en raison de l'élimination très majoritairement biliaire de cette toxine. Son excrétion urinaire, probablement faible, reste encore à démontrer.

Concernant la roquefortine C son métabolisme hépatique et la possibilité d'existence d'un cycle entéro-hépatique sont encore hypothétiques. Enfin son élimination est très fortement biliaire et fécale, mais une faible proportion de celle-ci reste tout de même détectable dans les urines.

5) Pharmacodynamique

Les travaux portant sur les récepteurs au pénitrem A et les mécanismes de sa toxicité dans l'organisme sont nombreux dans la littérature. En revanche ils sont quasiment inexistantes pour la roquefortine C. La majorité de cette partie sera donc consacrée à la pharmacodynamie du pénitrem A. Avant de détailler les différents sites d'action et effets connus de cette mycotoxine, il est nécessaire de signaler que son mécanisme d'action précis n'est pas encore totalement élucidé.

1. Neurotoxicité

Bien que non entièrement déterminée, l'activité neurotoxique du pénitrem A serait le résultat de son interaction avec plusieurs cibles cellulaires différentes. En effet, même si la toxicité de cette toxine semble être fortement dirigée envers les cellules de Purkinje, différents mécanismes ont été suspectés

pour expliquer sa neurotoxicité. Ces principaux mécanismes sont : la cytotoxicité dirigée envers les cellules de Purkinje (Breton et al., 1998; Cavanagh et al., 1998; Evans and Gupta, 2018; Goda et al., 2016), le dysfonctionnement de la neurotransmission de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Moldes-Anaya et al., 2011; Norris et al., 1980), le blocage des canaux potassique calcium dépendants à grande conductance (BK) (Imlach et al., 2008) et l'induction d'un stress oxydatif dans les cellules cérébelleuses (Berntsen et al., 2013).

a) Action sur les cellules de Purkinje et sur ses neuromédiateurs

Pour de nombreux auteurs l'une des actions principales du pénitrem A résiderait dans sa cytotoxicité pour les cellules de Purkinje (Breton et al., 1998; Cavanagh et al., 1998; Evans and Gupta, 2018; Goda et al., 2016). Ces cellules sont localisées dans la couche moyenne du cortex cérébelleux, et jouent un rôle fondamental dans la coordination motrice en régulant l'activité des noyaux cérébelleux profonds et vestibulaires. Cette action inhibitrice est permise grâce aux terminaisons de leurs axones formant des synapses avec les cellules de ces noyaux, au niveau desquelles des neurotransmetteurs inhibiteurs, dont le principal est le GABA, permettent une modulation de l'excitation spontanée de ces noyaux. Le schéma suivant (Figure 27) présente l'organisation du cervelet :

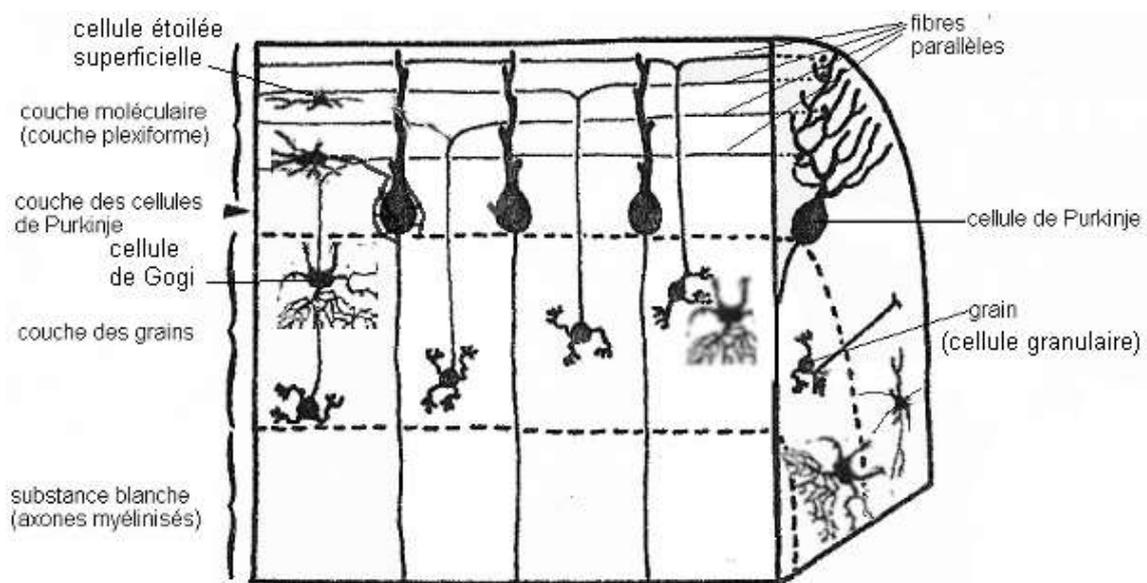


Figure 27 : Organisation spatiale du cervelet, coupe longitudinale (ENS Lyon, 2002)

Des recherches ont démontré que l'administration de pénitrem A, de manière chronique par voie orale sur des ovins, ou par injection intrapéritonéale chez le rat, augmentait la libération d'acides aminés neurotransmetteurs par les synaptosomes de l'encéphale, et le flux sanguin du cortex cérébelleux. En effet la quantité d'acide aspartique, d'acide glutamique et d'acide γ -aminobutyrique (GABA) libérée dans l'espace inter synaptique était considérablement augmentée suite à une injection ou une consommation de pénitrem A (Goda et al., 2016; Norris et al., 1980). En revanche la quantité globale de ces neuromédiateurs synthétisée restait inchangée ce qui suggèrait une stimulation de leur libération uniquement. De plus au cours de ces expérimentations, les synaptosomes de la moelle épinière n'ont pas subi d'augmentation d'excrétion de neurotransmetteur (Norris et al., 1980).

Une brève description des relations inter neuronales entre les différentes populations de cellules cérébelleuses est représentée sur la Figure 28, les neurones inhibiteurs y sont représentés en noir :

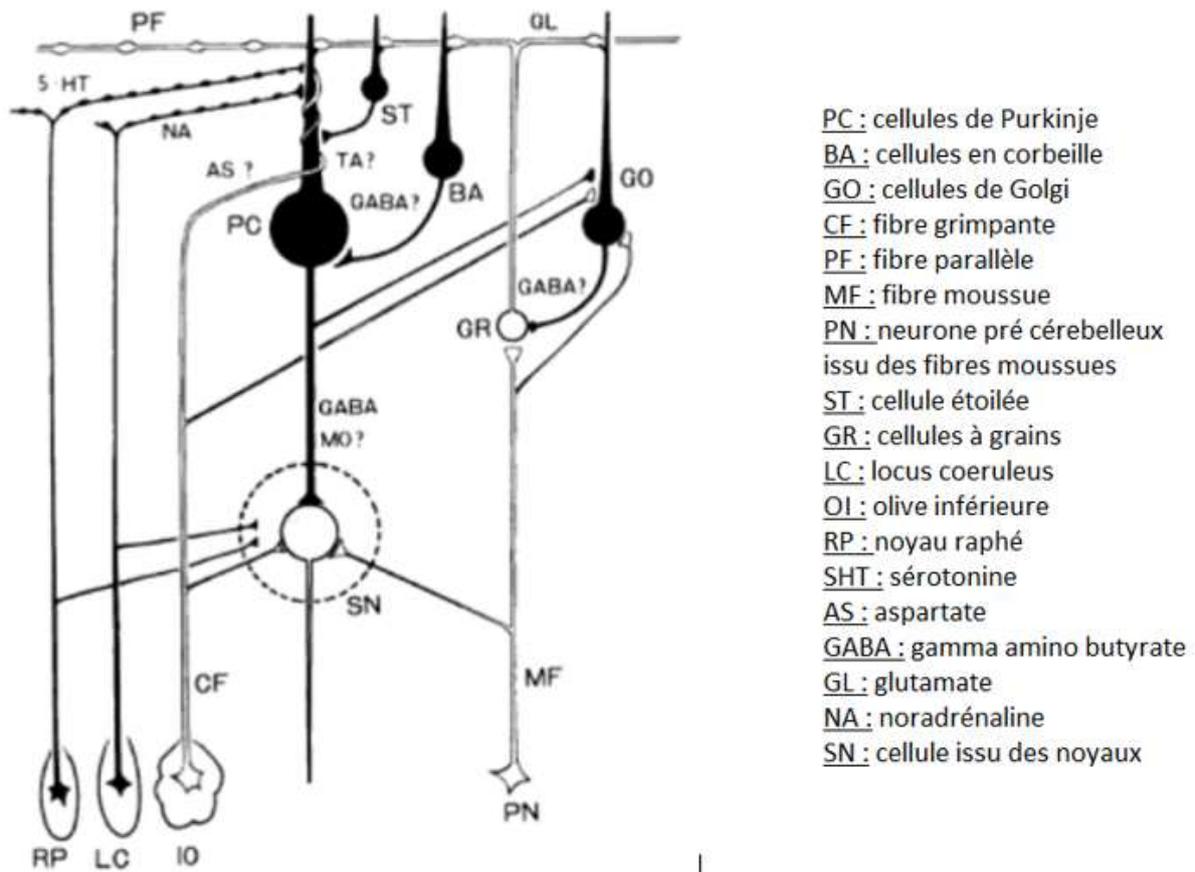


Figure 28 : Les connexions intercellulaires cérébelleuses et les neurotransmetteurs impliqués (d'après Ito and Itô, 1984)

Comme en témoigne le schéma précédent, l'acide aspartique et l'acide glutamique agissent au niveau des synapses entre les dendrites des cellules de Purkinje et respectivement, les fibres nerveuses grimpantes et parallèles de la couche externe du cortex cérébelleux. Ces 2 molécules sont des neurotransmetteurs excitateurs majeurs des cellules de Purkinje. Le pénitrem A entraîne donc le relargage de neuromédiateurs à effets inhibiteurs ou excitateurs au niveau de différentes synapses cérébelleuses. Cette modification des quantités de substances régulatrices des centres nerveux impliqués dans la commande du mouvement serait donc à l'origine des troubles nerveux observés lors des intoxications canines à cette toxine.

De plus il a été expérimentalement démontré que chez le rat l'administration de pénitrem A causait une dégénérescence d'une grande majorité des cellules de Purkinje, et était responsable de l'apparition de foyers de nécrose dans la couche granulaire du cervelet. Les lésions cellulaires étaient principalement constituées de condensations cytoplasmiques éosinophiles, de la présence de fines vacuoles dans le réticulum endoplasmique lisse des dendrites et d'une hypertrophie des mitochondries des corps cellulaires. Lors de l'autopsie des animaux aucune autre lésion n'a été retrouvée ailleurs que dans le cervelet, malgré l'examen de l'ensemble de l'encéphale (Cavanagh et al., 1998). Des lésions similaires ont été mises en évidence sur les mêmes cellules dans une seconde étude à nouveau effectuée sur des rats intoxiqués au pénitrem A (Goda et al., 2016). Celles-ci suggèrent une nouvelle fois que les cellules de Purkinje étaient bien les principales victimes de la neurotoxicité du pénitrem A.

A. Bien que cela puisse paraître surprenant, même dans le cas d' une perte importante de ces cellules, la récupération des capacités cognitives et la rémission des symptômes nerveux paraissait possible chez les animaux (Cavanagh et al., 1998). Enfin également selon Cavanagh et ses coauteurs les tremblements induits par le pénitrem A pourraient être causés par une inhibition présynaptique d'interneurones inhibiteurs (Cavanagh et al., 1998).

D'autres mycotoxines trémorigènes ont également démontré leur capacité à augmenter la libération de neuromédiateurs, en effet le verruculogène augmenterait la quantité d'aspartate et de glutamate relarguée dans les synaptosomes de l'encéphale, mais n'y modifierait pas la libération de GABA (Norris et al., 1980). D'autres neuromédiateurs que les acides aminés voient leur production modifiée suite à l'action du pénitrem A, dont notamment la glycine un des neurotransmetteurs inhibiteurs les plus importants du système nerveux central. En effet des travaux ont démontré que sa quantité diminuait fortement dans le cerveau mais restait inchangée ou était même augmentée dans la moelle épinière, suite à l'effet de cette toxine (Breton et al., 1998; Evans and Gupta, 2018). Les convulsions et tremblements observés lors d'intoxications pourraient donc aussi en partie être causés par une diminution de l'inhibition apportée par la glycine en conditions physiologiques. D'autant plus qu'il a été montré que des substances favorisant la sécrétion de glycine dans le système nerveux central pouvaient stopper ces troubles nerveux (Breton et al., 1998).

b) Action sur le récepteur GABA

Le pénitrem A agit donc au niveau présynaptique en favorisant la libération de GABA dans la fente synaptique, mais il possède également un deuxième site d'action localisé sur les neurones post synaptiques où il influe dans la neurotransmission de par son effet sur les récepteurs au GABA (Moldes-Anaya et al., 2011; Norris et al., 1980).

Les récepteurs GABA_A sont présents dans tout le système nerveux central. Ce sont des complexes protéiques hétéromères composés de multiples sous-unités. En fonction de leur localisation neuroanatomique, des différences structurales de ces récepteurs liées à la présence ou à l'absence de certaines sous-unités, existent. Cette diversité structurale est très importante, il existe en effet au moins 18 sous-unités protéiques différentes (alpha 1 à 6, bêta 1 à 3, gamma 1 à 3, delta, epsilon, thêta, rho 1 à 3), et ces sous-unités possèdent toutes un domaine extra membranaire avec des sites de fixation au GABA et à d'autres molécules. Ensemble celles-ci forment un pore membranaire pouvant s'ouvrir suite à la modification de la conformation de ces sous-unités par fixation de ligands extracellulaires. Cette ouverture permet le passage d'ions chlorures (Rudolph et al., 2001). Les récepteurs GABA_A ne permettent pas uniquement la fixation du GABA, des interactions sont possibles avec de nombreuses molécules dont : des agonistes compétitifs (GABA, muscimol...), des antagonistes compétitifs comme la bicuculine, des benzodiazépines (flunitrazepam, diazepam, ...), des antagonistes non compétitifs, des barbituriques dont le pentobarbital et le phénobarbital, des neurostéroïdes (alfaxolone, progestérone...) et des substances toxiques (Moldes-Anaya et al., 2011). À ce sujet il a été démontré que le pénitrem A pouvait avoir un effet différent sur la fixation d'agonistes ou d'antagonistes du récepteur GABA_A en fonction de la localisation cérébrale ou cérébelleuse de ces derniers (Moldes-Anaya et al., 2011).

Plus précisément cette étude datant de 2011 a tenté de déterminer les effets du pénitrem A au niveau des récepteurs GABA_A post synaptiques du cortex cérébral et du cortex cérébelleux. Les résultats ont montré que cette toxine serait un effecteur allostérique positif dans les synapses du cerveau où il

stimulerait la réceptivité du récepteur GABA_A. Au contraire dans le cervelet le pénitrem A montrerait un effet antagoniste compétitif, suggérant que son site de liaison puisse être le même que celui de la bicuculline. Il inhiberait donc l'action du GABA au niveau postsynaptique dans le cervelet (Moldes-Anaya et al., 2011). De même Bernsten et ses collaborateurs ont démontré l'implication de récepteurs GABA_A dans la toxicité du pénitrem A en montrant que l'ajout d'agonistes du GABA ou de diazépam, un modulateur allostérique positif de ce récepteur, permettait de diminuer la cytotoxicité de cette mycotoxine sur des neurones granulaires cérébelleux (Berntsen et al., 2013). Quatre autres mycotoxines trémorigènes : l'aflatrème, la paspalinine, paxilline et le verruculogène, ont également montré leur capacité à inhiber le récepteur GABA_A et donc l'influx d'ions chlorures dans les neurones de rats (Gent et al., 1987).

Le site de fixation exact du pénitrem A sur les récepteurs GABA_A n'est pas connu, cependant celui-ci pourrait varier en fonction de la localisation et donc la composition en sous-unités du récepteur GABA_A, ce site de liaison serait différent de celui du GABA ou de celui des benzodiazépines dans le cerveau, et serait en revanche proche de celui de la bicuculline dans le cervelet (Moldes-Anaya et al., 2011). Dans cette même étude, le pénitrem A a également démontré un second effet postsynaptique au niveau du cortex cérébelleux, en inhibant la réabsorption de GABA (et de glutamate) ce qui a entraîné l'accumulation de ces neuromédiateurs dans la fente synaptique. Ceci aurait potentiellement pour conséquence une stimulation plus importante des récepteurs GABA_A et une modification de la neurotransmission. Néanmoins les doses de pénitrem A nécessaires à l'induction de cette altération de résorption étaient nettement supérieures à celles ayant permis l'inhibition de ces récepteurs dans le cervelet (Moldes-Anaya et al., 2011).

c) Induction de stress oxydatif

En 2013 une étude *in vitro* réalisée par Bernsten et ses collaborateurs sur des cellules cérébelleuses de la couche granulaire du cervelet de rats, a démontré l'importance du stress oxydatif dans la mort cellulaire observée sur ces cellules après une exposition au pénitrem A. Les auteurs ont d'abord démontré la toxicité dose et temps dépendante de cette toxine pour les cellules en question, après quoi un effet dose dépendant entre l'exposition et la formation d'espèces réactives de l'oxygène a été mise en évidence. Au cours de cette étude la quantification de ces dérivés de l'oxygène, responsables du stress oxydatif et de dommages cellulaires, a été révélée par fluorescence, celle-ci étant de plus en plus forte lorsque leur quantité augmentait. Lors des mêmes expérimentations l'ajout de vitamine E, une substance connue pour son activité anti oxydante à effet rapide, a permis une quasi absence de fluorescence indiquant une très forte diminution du nombre d'espèces réactives de l'oxygène synthétisées, associée à une réduction majeure des morts cellulaires. Étant donné que suite à cet apport de vitamine E, la réduction d'apparition d'entités réactives de l'oxygène et celle des morts cellulaires ont été concomitantes, les auteurs ont conclu que l'action cytotoxique du pénitrem A dirigée envers les cellules granulaires cérébelleuses était liée à l'instauration d'un stress oxydatif dans ces dernières (Berntsen et al., 2013).

Une autre étude a aussi mis en évidence la diminution de la neurotoxicité du pénitrem A par addition d'Astaxanthine, une substance réputée pour son activité antioxydante, ou d'acide docosahexaénoïque sur des cellules de Schwann cultivées *in vitro* et *in vivo* chez des rats (Goda et al., 2016).

d) Action sur canaux potassiques calcium dépendants à grande conductance (BK)

Les canaux potassiques dépendants du calcium sont diversement répartis dans le système nerveux central, ils influent fortement dans la régulation de l'activité neuronale et la libération de neurotransmetteurs. Ils ont la capacité de coupler des variations de potentiels membranaires à des signaux intracellulaires calcium dépendants. Ces canaux sont classés selon leur conductance, en 3 sous catégories : les canaux à petite, moyenne et grande conductance (dits canaux BK pour big potassium) (Kshatri et al., 2018). Seuls les canaux potassiques calcium dépendants à grande conductance (BK) seraient impliqués dans le mécanisme d'action du pénitrem A d'après la littérature.

L'effet des mycotoxines trémorigènes sur ce canal ionique a notamment été étudié dans le cas du lolitrem B pour son implication dans l'occurrence du syndrome du ray-grass staggers. Ainsi Imlach et ses coauteurs ont montré que le lolitrem B et la paxilline, deux indoles diterpènes dérivés de la paspaline, étaient tous deux inhibiteurs de ces canaux BK et que leurs affinités respectives pour ce transporteur étaient corrélées à l'importance de leurs toxicités respectives in vivo (Imlach et al., 2008). Mais surtout ces chercheurs ont démontré que des souris délétées d'un gène responsable de la synthèse de ce canal ionique et exposées à des doses normalement létales de ces 2 mycotoxines, ne présentaient aucun symptôme. La recherche de la cible du lolitrem B a même été précisée, ainsi une délétion d'un gène codant pour la formation de la sous-unité bêta 4 des canaux BK a uniquement entraîné l'apparition d'une légère ataxie chez les souris mutantes intoxiquées au pénitrem A. Les auteurs ont même conclu que cette sous-unité bêta 4 pourrait devenir une potentielle cible thérapeutique pour les traitements contre les ataxies et les tremblements chez l'homme et l'animal (Imlach et al., 2008). Cette étude a donc démontré que les canaux BK sont bien la cible du lolitrem B responsable de l'apparition du ray-grass staggers.

L'inhibition des canaux BK par le pénitrem A a, elle, été démontrée par Knauss et ses co auteurs 1994. Dans cette étude il a également été prouvé que certains autres membres des indoles diterpènes inhibaient ces canaux dont notamment les paspalitremes A et C, l'aflatrème et la paspalinine. De plus il a été démontré que cette inhibition n'affectait pas les autres canaux potassiques voltage ou calcium dépendants (Knaus et al., 1994). Enfin d'autres chercheurs ont montré que l'inhibition des canaux BK par le pénitrem A pouvait varier en fonction de leur composition en sous-unités, l'ajout ou le retrait de certaines sous-unités pouvant entraîner la nécessité d'une plus grande concentration de pénitrem A pour l'inhibition du passage des ions K^+ (Asano et al., 2012).

L'ensemble de ces études a démontré que les canaux potassiques calcium dépendants à grande conductance étaient des cibles du pénitrem A dans l'organisme. Des études plus poussées sur l'influence du pénitrem A sur chacune de ses sous-unités protéique sont encore nécessaires pour tenter de comprendre le mécanisme exact de l'inhibition de ces canaux BK par cette toxine. En particulier, il serait très intéressant de pouvoir observer les effets du pénitrem A sur un mutant délété des gènes responsables de la synthèse des canaux BK afin de voir si l'absence de cette cible cellulaire serait suffisante pour empêcher l'apparition de troubles nerveux, comme cela a été réalisé pour le lolitrem B.

e) Autres actions au niveau du système nerveux central

L'ajout d'un chélateur de calcium, le 1,2-bis(2-aminophenoxy)-éthane-N,N,N',N' -tetraacetic acid tetraacetoxymethyl ester (ou BAPTA-AM) lors de l'exposition de cellules cérébelleuses de rats au pénitrem A a montré un effet neuroprotecteur dose dépendant de cette molécule. Ces résultats suggéraient une augmentation du calcium libre intracellulaire suite à l'action du pénitrem A (Berntsen et al., 2013).

Cette information pourrait avoir une importance biologique importante, en effet une augmentation du calcium libre intracellulaire a déjà été reliée à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (Berntsen et al., 2013). De même il serait tentant de dire que cette modification de la quantité de calcium intracellulaire pourrait avoir un effet sur, ou être liée aux canaux BK. Néanmoins aucune relation entre ces 3 conséquences de l'exposition de neurones cérébelleux au pénitrem A n'a été établie à ce jour. De plus les connaissances au sujet de ces 3 modifications intracellulaires sont trop parcellaires pour avancer de telles conclusions, alors même que le mécanisme d'action de cette mycotoxine n'est pas entièrement élucidé.

Enfin l'effet du pénitrem A sur les récepteurs cérébelleux postsynaptiques au glutamate, à savoir les récepteurs NMDA (acide N-Methyl-D-aspartique) et AMPA (acide α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionique) ne fait pas l'objet d'un consensus dans la littérature. Si certains auteurs ont suggéré que l'origine des lésions cellulaires cérébelleuses soit due à une augmentation intracellulaire du calcium elle-même liée à une activation du récepteur NMDA par ce toxique (Breton et al., 1998), d'autres ont en revanche expérimentalement démontré que l'ajout d'antagonistes de ces récepteurs ne permettait pas de diminuer le pourcentage de morts cellulaires (Berntsen et al., 2013) et que les liaisons effectuées par ces récepteurs glutamatergiques n'étaient pas modifiées sous l'effet du pénitrem A (Moldes-Anaya et al., 2011). Ainsi les récepteurs cérébelleux au NMDA et à l'AMPA, pourtant respectivement impliqués dans les tremblements et l'épilepsie, ne seraient pas directement impliqués dans la cytotoxicité du pénitrem A dirigée envers les cellules du cervelet.

La Figure 29 ci-dessous résume l'ensemble des actions neurotoxiques suspectées ou confirmées du pénitrem A :

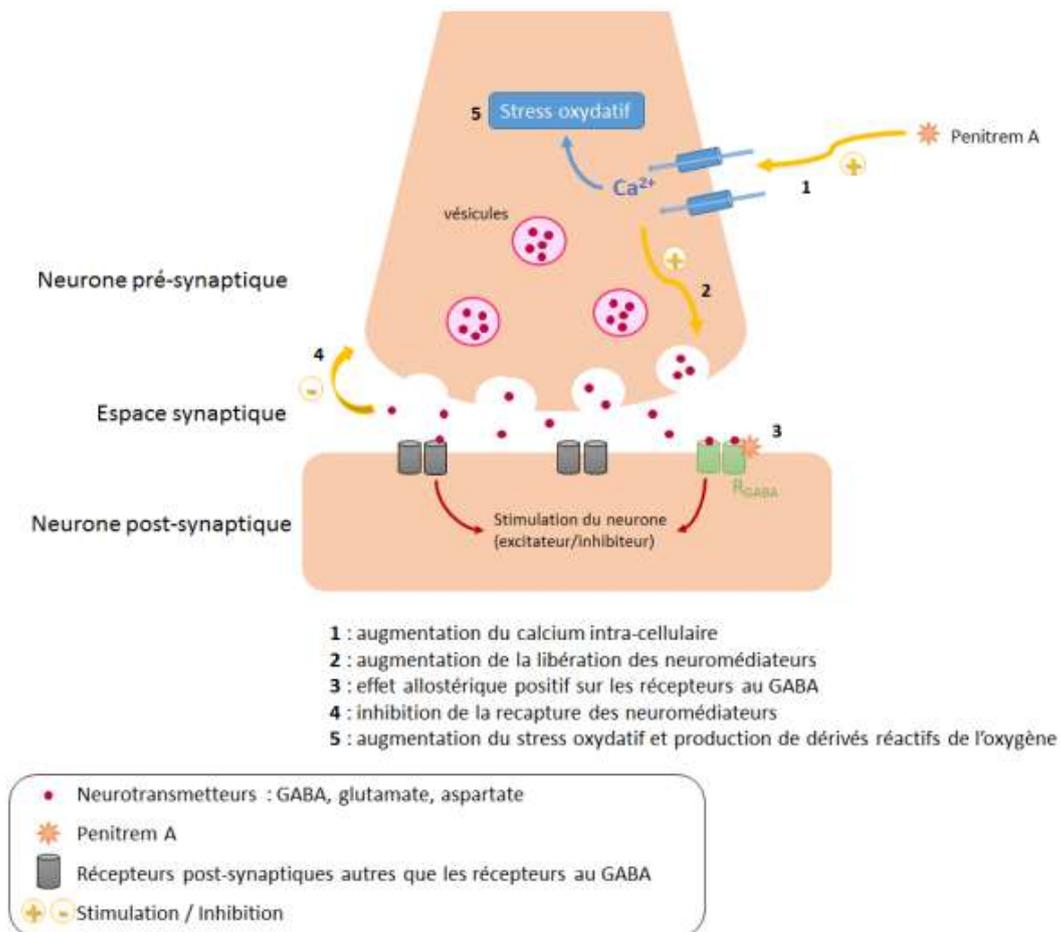


Figure 29 : Schéma bilan de l'activité neurotoxique du pénitrem A (issu de Lheureux et al., 2018)

2. Autres toxicités

La toxicité du pénitrem A dirigée envers d'autres tissus que le système nerveux ne fait pas l'unanimité parmi les auteurs. Ainsi la conclusion des travaux de Arp et Richard en 1981, menés sur des cochons d'Inde exposés par voie orale à cette toxine, était que le pénitrem A n'affecte que le système nerveux central (Arp and Richard, 1981). Certains auteurs ont même restreint son action toxique au cervelet en raison de l'absence de lésions observables dans d'autres régions de l'organisme lors d'autopsies (Cavanagh et al., 1998). Néanmoins l'absence de lésions n'est pas synonyme de l'absence d'action et certaines études ont tout de même démontré un effet du pénitrem A dans d'autres organes que le système nerveux central. Celles-ci sont présentées dans cette partie :

a) Effet sur les muscles striés et la synapse neuro-musculaire

Chez le mouton il a été démontré que le pénitrem A avait la capacité de modifier la fréquence et l'amplitude des potentiels d'action des cellules musculaires striées de façon réversible et sur des temps

brefs. La sensibilité au pénitrem A de différentes zones corporelles a été testée au cours de cette étude et a montré que la réponse des cellules musculaires pouvait varier en fonction de leur localisation. Précisément il a été observé que les muscles de l'épaule étaient plus stimulés par cette toxine que ceux de la nuque, de la cuisse et des lombaires (Smith et al., 1997). Les mêmes observations sur les modifications des potentiels d'actions par les mycotoxines trémorigènes ont été effectuées au niveau des synapses neuro-musculaires de diaphragme de rats (Wilson et al., 1972). Ces courtes et intenses modifications des potentiels d'actions membranaires des rhabdomyocytes pourraient en partie expliquer les trémulations musculaires observées lors d'intoxications animales au pénitrem A.

b) Effet sur les muscles lisses

La plupart des études ayant porté sur l'influence des mycotoxines trémorigènes sur les muscles lisses a cherché à montrer leurs effets sur le système digestif de cobayes, rats ou moutons ; aucune donnée n'est disponible dans l'espèce canine. La capacité du pénitrem A, de la paxilline et du lolitrem B à modifier l'électromyogramme et les contractions du réticulo-rumen des ovins a déjà été démontrée (Evans and Gupta, 2018; Wang et al., 2003). Plus précisément ces 3 molécules ont eu pour effet stimuler les contractions intrinsèques du rumen, et d'inhiber l'influence vagale dans les contractions ruminales (Mcleay and Smith, 1999; Wang et al., 2003).

Ces effets des mycotoxines trémorigènes sur les pré estomacs des ruminants ont pu être inhibés par l'ajout d'atropine, un parasympathico-lytique agissant par inhibition compétitive des récepteurs muscariniques à l'acétylcholine (Mcleay and Smith, 1999). De plus le pénitrem A a déjà montré sa capacité à potentialiser les effets contractiles de l'apport d'acétylcholine exogène (Wang et al., 2003). Ces deux données suggèrent un comportement agoniste compétitif du pénitrem A sur les récepteurs muscariniques à l'acétylcholine des leiomyocytes digestifs, et une capacité de cette même toxine à augmenter la sensibilité de ces récepteurs post synaptiques à l'acétylcholine. Il a également été montré que la paxilline, le pénitrem B et le verruculogène favorisaient les contractions iléales de cochons d'inde mais ne potentialisaient pas l'acétylcholine exogène (Selala et al., 1989), ce qui était en faveur d'une augmentation de libération d'acétylcholine dans la fente synaptique. Le pénitrem A aurait donc potentiellement une action pré et post synaptique, dans la neurotransmission de l'acétylcholine de la synapse neuro-musculaire des leiomyocytes du système digestif.

Les effets des mycotoxines trémorigènes sur les muscles lisses peuvent aussi être différents sein d'un même organe, en effet Smith et ses coauteurs ont montré qu'elles pouvaient successivement inhiber ou favoriser les contractions duodénales selon la phase des complexes migrants se déroulant dans celui-ci (Smith et al., 1997).

Les myocytes des voies urinaires et en particulier des uretères peuvent également voir leurs électromyogrammes modifiés par l'action de pénitrem A, et selon certains auteurs ceci pourrait être lié à des courants ioniques de potassium et plus particulièrement à la présence de canaux BK (Hollywood et al., 2000). L'inhibition de ces mêmes canaux par la paxilline et le paspalitrem C a ainsi entraîné le renforcement des contractions des cellules musculaires lisses de la vessie et du duodénum chez le rat et de la vessie chez le cobaye (DeFarias et al., 1996). Les canaux BK étant une cible de l'action du pénitrem A, il serait logique que leur présence au niveau des cellules musculaires lisses urinaires et digestives entraîne des modifications au niveau de ces tissus.

Il faut souligner que les canaux BK sont présents dans un grand nombre de leiomyocytes (DeFarias et al., 1996), il ne faut donc pas exclure la possibilité qu'une intoxication au pénitrem A chez le chien

puisse induire des modifications dans les organes dont les tissus sont en grande partie constitués de cellules musculaires lisses, dont notamment le tractus digestif et les voies urinaires. Enfin certains auteurs suggèrent que les léiomyocytes seraient plus sensibles à l'action du pénitrème A que les rhabdomyocytes (cité par Evans and Gupta, 2018).

c) Génotoxicité

La génotoxicité des mycotoxines trémorigènes a été étudiée en raison de l'existence d'autres toxines fongiques présentant un potentiel mutagène et génotoxique dont notamment les aflatoxines. La toxicité envers l'ADN de 5 composés a donc été étudiée en 2003 : le fumitremorgène B, la paxilline, le pénitrème A, la verrucosidine, et le verruculogène. Les résultats ont montré que toutes ces molécules avaient un effet génotoxique d'intensité variable, à l'exception du pénitrème A. Parmi ces toxines la verrucosidine présentait la plus grande toxicité envers les acides nucléiques (Sabater-Vilar et al., 2003).

6) Domaines d'utilisation actuel et futur

Les mycotoxines trémorigènes possèdent un grand nombre de propriétés utiles dans le domaine de la médecine, l'agriculture, l'agroalimentaire, de l'industrie pharmaceutique et de la recherche fondamentale en biologie. Néanmoins l'utilisation de médicaments dérivés de ces métabolites secondaires est encore très rare et limitée à quelques espèces seulement, telles que les dérivés de l'ergot produit par *Claviceps paspali* pouvant servir dans le traitement des migraines ou de la maladie de Parkinson. Une des raisons principales de cette faible utilisation réside dans les difficultés à produire des métabolites secondaires fongiques en grande quantité (Kozák et al., 2019). Nous ne détaillerons ici que les perspectives d'utilisation future du pénitrème A.

Potentiel anticancéreux :

Le pénitrème A a d'ores et déjà montré un potentiel anticancéreux. En effet il a été démontré in vitro que cette toxine présentait une activité anti proliférative, anti haptotactique et anti invasive dirigée contre des cellules de lignées cancéreuses issues de tissus tumoraux mammaires. Plus précisément le pénitrème A a induit l'arrêt de la phase G1 du cycle cellulaire de ces cellules et a entraîné la stimulation de la protéine d'arrêt p27 (Goda et al., 2018), une protéine inhibitrice du cycle cellulaire et donc suppressive de tumeur (Serres and Besson, 2009). De plus les canaux potassiques BK jouent un rôle fondamental dans la survie des cellules cancéreuses mammaires en permettant notamment l'hyperpolarisation membranaire et la régulation du cycle cellulaire (Goda et al., 2018). La synergie d'un traitement alliant le pénitrème A avec des principes actifs anti-HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2) pourrait selon certains scientifiques être une voie d'avenir prometteuse dans le traitement par chimiothérapie du cancer du sein (Goda et al., 2018).

L'intérêt porté de nos jours aux diterpènes et à leurs dérivés comme agents thérapeutiques anti cancéreux est en très grande augmentation depuis une vingtaine d'année. Une étude bibliographique a même démontré que plus de 250 diterpènes présentant des propriétés anti tumorales avaient été identifiés dans la littérature, dont certains étant déjà en phase d'essai clinique. Ces composés pourraient même un jour figurer parmi les principaux médicaments utilisés lors des thérapies anti cancéreuses (Islam, 2017). Cette action anti tumorale partagée par de nombreux membres des indoles diterpènes pourrait en partie être expliquée par le fait que des intermédiaires de synthèse précoces

communs à de très nombreuses voies de biosynthèses, tels que la paxilline ou l'émindole-SB sont eux-mêmes dotés d'effets anti prolifératifs, anti hapotactique, et anti migratoire, quasi équivalents à ceux de composés plus élaborés comme le pénitrème A (Sallam et al., 2013). Dernièrement les propriétés anti tumorales du pénitrème A seraient en partie également dues à son action sur les Wnt/ β caténines (cité par Kozák et al., 2019)

Bien que potentiellement très efficaces dans la lutte contre les cellules cancéreuses in vitro, les effets in vivo des indoles diterpènes, dont notamment l'inhibition des canaux potassiques BK, leur cytotoxicité pour les cellules cérébelleuses et l'induction de tremblements et de convulsions, sont un obstacle majeur à leur usage en tant que principes actifs de médicaments. Plusieurs solutions ont déjà été testées pour pallier à cette problématique, comme l'usage de pénitrèmes de synthèse analogues dont certains ont pu agir sur les Wnt/ β caténines sans inhiber les canaux potassiques BK, ni provoquer de tremblements (Kozák et al., 2019). Une autre possibilité serait d'essayer de diminuer les effets indésirables des pénitrèmes grâce à l'utilisation conjointe d'autres agents thérapeutiques.

Utilisation en recherche biologique :

Les canaux BK ont fait l'objet d'un très grand nombre d'études dans divers domaines ces dernières années. L'iberiotoxine est considérée comme le « gold standard » des antagonistes de ce récepteur pour permettre son étude, cependant cette molécule présente des défauts majeurs dont notamment son coût et son effet inducteur d'imperméabilité membranaire. Or le pénitrème A s'est expérimentalement révélé être un aussi bon inhibiteur de ces canaux potassiques, que cette molécule, tout en préservant une meilleure perméabilité membranaire et en présentant un coût nettement inférieur. Il pourrait donc à l'avenir, être un outil très intéressant dans la recherche en biologie afin d'étudier le rôle et les effets des canaux BK, impliqués dans d'innombrables mécanismes cellulaires (Asano et al., 2012).

Des rôles variés propres à certains composés :

-La roquefortine C serait suspectée d'avoir un rôle antibiotique (Frisvad et al., 2004).

II) Description de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien

A) Aspects pratiques et cliniques de l'intoxication du chien aux mycotoxines trémorigènes

Cette partie aborde la présentation et les manifestations cliniques ou anamnestiques de l'intoxication des chiens aux mycotoxines trémorigènes. Seule une trentaine de cas d'intoxications canines au pénitèrme A et/ou à la roquefortine C, démontrés par analyse, ont fait l'objet d'une publication dans la littérature. Ceux-ci sont décrits dans le tableau présenté en Annexe 1 :

1) Exposition des animaux

1. *Denrées incriminées*

La littérature fait mention différents substrats alimentaires ayant entraîné une intoxication aux mycotoxines trémorigènes avec présence de symptômes neurologiques dans l'espèce canine. En effet deux publications ont relaté des cas avérés de chiens intoxiqués suite à la consommation de noix moisis (J.S. Munday et al., 2008; Richard et al., 1981), et une seule a témoigné d'un tel épisode de troubles suite à l'ingestion de compost (Boysen et al., 2002). Les autres cas d'intoxications canines répertoriés sont liés à la consommation d'aliments moisissés variés (fromage, pain, riz, pâtes, nourriture pour chien altérée, pommes pourries) ou de déchets alimentaires de nature inconnue (Eriksen et al., 2010; Hocking et al., 1988; Naudé et al., 2002; Puls and Ladyman, 1988; Richard and Arp, 1979; Walter, 2002; Young et al., 2003). Enfin 3 études, effectuées grâce aux bases de données de centres antipoison Français, ont recensé des suspicions d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, où le diagnostic de certitude par analyse n'a pas été mené (Adamczyk et al., 2016; Kammerer and Pouliquen, 2015; Lheureux et al., 2018).

Il est possible de distinguer 4 grands types de toxiques pouvant induire une intoxication canine en raison de leur potentielle richesse en mycotoxines trémorigènes : les aliments moisissés initialement destinés à la consommation humaine, les déchets alimentaires contenus dans les poubelles, le compost et les noix moisis tombées aux pieds des noyers.

a) Aliments moisissés, déchets alimentaires et compost

Le comportement alimentaire de l'espèce canine explique en grande partie l'occurrence d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes. Les chiens sont en effet des carnivores non stricts (Lefebvre, 2020) à tendance omnivore. Ils consomment donc aussi bien de la viande que des féculents ou des légumes cuits et des fruits. Une très grande partie des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine est donc naturellement appétante pour les chiens, qui ont alors spontanément tendance à les consommer.

De nos jours en raison d'habitudes sociétales ou hygiéniques l'essentiel des denrées alimentaires altérées, ou les restes alimentaires sont souvent regroupés dans des poubelles ou sur des tas de compost pour certaines denrées spécifiques. Le point commun entre les contenus des composts, des poubelles et des restes alimentaires est leur très grande variabilité de composition en raison de la nature des différents produits pouvant s'y retrouver. Néanmoins ces trois sources se sont déjà toutes

révélées être à l'origine d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, démontrées par analyses et non discernables cliniquement les unes des autres, chez l'espèce canine (Eriksen et al., 2010; Hocking et al., 1988; Naudé et al., 2002; Puls and Ladyman, 1988; Richard and Arp, 1979; Walter, 2002; Young et al., 2003).

Ces intoxications s'expliquent par le développement des champignons producteurs de roquefortine C et de pénitrème A sur les denrées alimentaires (Boysen et al., 2002). Il est fondamental de souligner que tous les cas d'intoxication à ces 2 mycotoxines chez le chien n'ont été rapporté que suite à la consommation d'aliment moisie, altérés ou périmés. Aucun aliment frais ou considéré comme consommable par l'espèce humaine n'a été à ce jour à l'origine d'une telle intoxication, rapportée dans une publication. Donc bien que, comme déjà évoqué, la présence de mycotoxines ne soit pas forcément reliée à la présence macroscopiquement visible de la moisissure sur l'aliment, il semble tout de même qu'une altération importante du substrat alimentaire soit nécessaire pour induire des symptômes nerveux.

L'occurrence des intoxications liées à la consommation d'aliments altérés s'explique également par la facilité de croissance des moisissures sécrétrices de mycotoxines trémorigènes sur de très nombreux aliments quotidiennement consommés par la majorité des Français, dont notamment les féculents cuits, le pain, les légumes, les fruits et les fromages (Eriksen et al., 2013; Hocking et al., 1988; Kalinina et al., 2017; Young et al., 2006). De plus les conditions environnementales des poubelles dans lesquelles sont conservés les déchets alimentaires sont souvent très favorables au développement de certaines espèces de *Penicillium* ou d'*Aspergillus*.

b) Noix moisies

Les noix moisies se sont, elles aussi, révélées comme une source de mycotoxines trémorigènes potentiellement responsable d'une intoxication chez le chien. Des noix cueillies et conservées trop longtemps peuvent être consommées accidentellement par un chien (Lheureux et al., 2018), cependant dans la majorité des cas rapportés ce sont des consommations de fruits en décomposition au pied des arbres en extérieur qui sont à l'origine d'intoxications (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Les conditions environnementales présentes lors de l'altération des noix tombées au sol sont donc à un moment forcément propices à la croissance des espèces de *Penicillium* et à la synthèse de pénitrème A ou de roquefortine C. Dans les 2 cas rapportés dans la littérature, la détection des mycotoxines a été effectuée sur un échantillon de cerneaux de noix d'aspect moisi à l'œil nu (J.S. Munday et al., 2008; Richard et al., 1981). Néanmoins le brou de noix enveloppant la noix était lui aussi en décomposition. Il n'est donc pas exclu qu'en plus d'être présents dans la partie comestible de la noix, le pénitrème A ou la roquefortine C puissent également être synthétisés dans le brou du fruit.

c) Quantités nécessaires pour induire une intoxication chez le chien

Cette partie n'évoque pas le sujet des doses toxiques et létales du pénitrème A et de la roquefortine C pour l'espèce canine, qui sera traité dans la partie (Partie I ; II) B) 2)).

De nombreuses raisons expliquent l'impossibilité de définir une dose toxique chez le chien pour chaque aliment moisie : l'immense variabilité des différents substrats alimentaires potentiellement à l'origine d'intoxications, leur état d'altération variable par les moisissures, l'absence d'une stricte

corrélation entre la dégradation fongique et la concentration en mycotoxine de l'aliment, l'altération différentielle entre la surface et la profondeur des produits par les champignons et la répartition hétérogène des mycotoxines au sein des substrats. De plus si dans le cas de restes alimentaires, ou de denrées avariées, donnés volontairement par le propriétaire ou dérobés par l'animal, il est souvent aisé de connaître la quantité ingérée. Dans le cas d'une consommation de noix moisies en extérieur, de compost dans un jardin, du contenu de poubelles, ou en absence d'anamnèse, ou si plusieurs animaux ont consommé l'aliment il n'est pas possible d'estimer précisément cette dose.

Néanmoins les cas d'intoxications répertoriés dans la littérature nous apportent tout de même quelques éléments d'information : 200 g de saucisses pour chiens moisies ont suffi à provoquer des convulsions chez un Staffordshire Bull Terrier de 1 an et de 15,5 kg (Eriksen et al., 2010) ; 1 pain à hamburger moisi a causé des trémulations musculaires à un Husky adulte de 1 an pesant environ 20 kg (Hocking et al., 1988) ; un bol contenant des restes de fromage bleu a généré des convulsions chez un chien croisé Fox Terrier et Pékinois de 8 ans et de 6,4 kg (Puls and Ladyman, 1988) ; 2 paquets de fromage à la crème à moitié entamés ont provoqué des trémulations musculaires chez un labrador adulte de 11 ans (Young et al., 2003) et un plat moisi de macaronis aux fromages a engendré un status epilepticus sur un labrador adulte de 3 ans (Young et al., 2003).

L'ensemble de ces exemples nous montre que la consommation de quelques centaines de grammes d'aliments altérés par des champignons est à même de provoquer une intoxication avec l'apparition de graves symptômes neuro-musculaires chez des chiens adultes d'au moins 30 kg. Il est donc possible de conclure qu'une consommation d'un aliment moisi en très petite quantité, à une dose de l'ordre de quelques grammes par kilogramme de masse corporelle, est suffisante pour induire une intoxication canine. Toute consommation d'un aliment moisi, même en très faible quantité, est donc potentiellement susceptible de causer une intoxication chez un chien, quelle qu'en soit la race.

d) Différents substrats alimentaires mais une même intoxication

Bien que les contextes des intoxications soient différents dans les cas de consommation du contenu d'une poubelle, de compost ou d'un aliment moisi ou avarié, le toxique responsable de l'apparition de signes cliniques chez le chien est fondamentalement le même. En effet les champignons du genre *Penicillium* se développent sur des substrats alimentaires dans l'ensemble de ces scénarios, et ils synthétisent des mycotoxines trémorigènes responsables des effets toxiques observés lors de ces intoxications. Les signes cliniques présentés par les animaux suite à des consommations de ces substrats toxiques contaminés ne sont pas spécifiques de l'aliment consommé.

2. Mycotoxines impliquées dans l'intoxication

Dans toutes les intoxications aux mycotoxines trémorigènes démontrées et rapportées dans la littérature pour l'espèce canine, la présence de pénitrem A dans l'aliment préalablement consommé ou dans le contenu digestif de l'animal a été confirmée par analyse, à l'exception de 2 études (Lowe et al., 1992; Puls and Ladyman, 1988). La roquefortine C elle n'a été détectée que dans certains cas, de même que les pénitremes B, C, D, E, F, cependant ces métabolites n'ont pas constamment été recherchés lors des analyses.

Un cas unique a relaté la présence d'autres mycotoxines, les thomitrimères, ayant été mis en évidence conjointement au pénitrimère A et dont le rôle exact dans l'apparition des signes cliniques a été, de ce fait, impossible à déterminer (Eriksen et al., 2010). Le pénitrimère A et la roquefortine C sont donc les 2 seules mycotoxines trémorigènes à avoir été détectées à plusieurs reprises dans des cas d'intoxication de chiens par des aliments moisissés. Aucune intoxication à dominante nerveuse causée par un autre métabolite secondaire fongique sans présence de pénitrimère A ou roquefortine C n'a ainsi été rapportée.

La présence concomitante de pénitrimère A et de roquefortine C dans les aliments, le contenu digestif, les organes ou le sang d'animaux intoxiqués par ces mycotoxines était probablement liée à leur synthèse commune par des espèces de moisissures telles que *Penicillium crustosum*. Différentes études in vitro ont montré que la synthèse de roquefortine C par cette espèce était supérieure à celle du pénitrimère A (cité par Tiwary et al., 2009), ce qui expliquait probablement que dans toutes les analyses effectuées sur des échantillons de contenu digestif contenant ces 2 mycotoxines la roquefortine C ait toujours été détectée en plus grande quantité. Ces 2 mycotoxines ont cependant été détectées communément dans une majorité des cas décrits (Boysen et al., 2002; Eriksen et al., 2010; Munday et al., 2008; Naudé et al., 2002; Walter, 2002).

Seules 2 études dans la littérature témoignent de la détection de roquefortine C sans détection de pénitrimère A dans l'aliment responsable de l'intoxication, cependant les auteurs soulignent eux même dans ces 2 publications que leurs méthodes d'analyses, basées sur une chromatographie sur couches minces (Puls and Ladyman, 1988) ou gazeuse (Lowes et al., 1992) couplée à une spectroscopie de masse, n'ont peut-être pas permis de détecter ou de rechercher tous les alcaloïdes potentiellement présents dans l'échantillon analysé (Puls and Ladyman, 1988). Ces méthodes de détection sont en effet moins sensibles pour la détection de la roquefortine C et du pénitrimère A que la chromatographie liquide couplée à la spectroscopie de masse (Tiwary et al., 2009). Il n'est donc pas exclu que du pénitrimère A ait été présent dans ces échantillons et ait été également responsable de ces intoxications. Ceci irait une fois de plus dans le sens des conclusions de nombreux auteurs selon lesquels la roquefortine C ne serait pas capable d'induire de convulsions ou de tremblements, mais uniquement une paralysie ou de l'anorexie (Tiwary et al., 2009). De plus la détection de roquefortine C dans les échantillons de ces 2 études, non associée à celle de pénitrimère A, pouvait aussi être liée à une quantité trop faible de ce dernier, sous la limite de détection permise par la méthode analytique.

Dans tous les cas où le pénitrimère A a été détecté seul, soit les auteurs ont témoigné de l'absence de recherche de roquefortine C dans les échantillons (Eriksen et al., 2010), soit la méthode analytique était basée sur une chromatographie sur couche mince, couplée ou non à la spectroscopie de masse, qui n'est donc pas la méthode la plus sensible de détection de la roquefortine C (Arp and Richard, 1979; Hocking et al., 1988; Richard et al., 1981; Young et al., 2003).

Tous ces résultats vont à nouveau dans le sens des conclusions de l'étude de Tiwary et ses co auteurs selon lesquels bien que la roquefortine C ne posséderait pas de propriétés trémorigènes, elle pourrait en revanche s'avérer être un excellent biomarqueur de la présence de pénitrimère A dans les échantillons analysés, et donc un élément diagnostique de l'intoxication des chiens à cette mycotoxine (Tiwary et al., 2009).

3. Caractéristiques des chiens intoxiqués

a) Comportement explorateur et curieux de l'espèce canine

Les chiens sont connus pour leur odorat très développé, cette caractéristique est d'ailleurs particulièrement utilisée par l'homme lors de la chasse ou la recherche de stupéfiants. Naturellement lors des balades quotidiennes les chiens ont tendance à utiliser ce sens afin d'explorer une grande partie de leur environnement. L'importance relative du sens de l'odorat par rapport à celui de la vue, du toucher, de l'ouïe ou du goût est largement supérieure chez le chien en comparaison avec l'espèce humaine. Un comportement explorateur ou curieux est donc souvent attribué aux chiens en raison de leur tendance à renifler leur milieu, ou les personnes et les animaux qu'ils rencontrent.

b) Aspect glouton, et opportuniste du chien

Le chien est un animal domestique issu de la domestication du loup, c'est donc initialement un prédateur. Dans la nature les chiens sauvages comme de nombreux prédateurs ont plutôt des consommations alimentaires occasionnelles que régulières, certains auteurs les qualifient de carnivores opportunistes en ce qui concerne leur comportement alimentaire (Lefebvre, 2020). Ce caractère opportuniste s'observe également chez le chien domestique qui bien qu'en général quotidiennement nourri par son propriétaire, est un animal connu pour commettre des indiscretions alimentaires (Adamczyk et al., 2016). La plupart des chiens auront en effet tendance à consommer une denrée alimentaire à disposition si celle-ci est à leur goût. Cet aspect est renforcé par le caractère glouton que présentent un nombre non négligeable des carnivores domestiques de nos jours, et qui peut renforcer la tendance de certains animaux à consommer n'importe quel type d'aliment même si celui-ci est altéré. Ce comportement peut même aller jusqu'à la fugue volontaire de l'animal du domicile de son propriétaire afin de pouvoir se procurer de la nourriture, ce qui augmente les risques de consommation indiscretions.

Ces écarts alimentaires peuvent arriver lors de différents contextes et concerner plusieurs types d'aliments : lors de la mise à disposition involontaire d'une denrée alimentaire destinée à l'homme par le propriétaire (aliment tombant par terre, accès du chien non surveillé à la cuisine, oubli d'une denrée placée à portée de l'animal...), lors de la consommation d'un aliment présent dans l'environnement extérieur au cours d'une ballade ou d'une fugue de l'animal (fruits tombé au sol, restes alimentaires humains, contenu d'une poubelle...), lors de l'ingestion de compost ou de fruits au sol dans le jardin du domicile (en particulier quand l'animal y est laissé sans surveillance).

c) Influence de la race, du sexe et de l'âge

La race, le sexe et l'âge des chiens intoxiqués dans les cas d'intoxication démontrés par analyse et présents dans la littérature sont présentés en Annexe 2. Étant donné le faible effectif de ces 29 cas d'intoxication, la non représentativité de ces animaux par rapport à une quelconque population canine de référence et les origines géographiques, temporelles et circonstancielles diverses des informations recueillies, aucune conclusion sur l'influence de la race, du sexe ou de l'âge sur le risque d'occurrence d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes ne peut être tirée de l'analyse statistique de ces références bibliographiques.

En revanche les résultats de deux études rétrospectives menées dans des centres antipoison Français et recensant des fortes suspicions d'intoxications canines, causées par des noix moisies pour la première ou par divers aliments moisies pour la seconde, seront présentés et serviront à l'étude épidémiologique de l'occurrence de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien. Ces deux travaux sont présentés dans le Tableau IV suivant :

Tableau IV : Présentation de 2 études rétrospectives menées dans 2 centres antipoison Français au sujet de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (d'après Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018)

Auteurs	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)
Type de publication	Article scientifique	Thèse d'exercice vétérinaire
Toxiques recensés dans l'étude	Noix moisies	Tout aliment moisi, compost, contenu de poubelles
Type	Rétrospective	Rétrospective
Période d'étude	De Janvier 2008 à Mars 2015	Du 9 Décembre 2005 au 8 Juin 2016
Nombre d'appels recensés pour des intoxications jugées au minimum probables	76	?
Nombre de chiens probablement intoxiqués	145	69
Centre antipoison d'origine des données exploitées	CNITV (Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires)	CAPAE-Ouest (Centre Antipoison Animal et Environnemental de l'Ouest)

Ces 2 études ont été menées grâce à l'exploitation des bases de données de centres antipoison. Celles-ci sont composées de fiches descriptives regroupant des informations sur des suspicions de cas d'intoxication par des vétérinaires ou des particuliers, ayant contacté par téléphone les centres de toxicologie vétérinaire en question. Ces appels téléphoniques sont souvent de courte durée en raison de la nécessité de réponse à d'autres sollicitations téléphoniques pour les permanents des centres antipoison. De plus les appelants omettent parfois de leur transmettre des éléments d'informations relatives aux chiens intoxiqués. Ces 2 raisons expliquent que certaines données sur les cas d'intoxication ne soient pas mentionnées dans ces fiches. Ainsi pour un nombre important des appels recensés dans les études de Adamczyk et Lheureux, le sexe, l'âge et la race des animaux concernés ne sont souvent pas précisés, comme en témoigne le Tableau V ci-dessous.

Tableau V : Race, sexe et âge des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes (d'après Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018)

Étude	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)
Race des animaux	Inconnue dans 70, 3 % des cas, absence de surreprésentation raciale pour les autres	Inconnue dans 20 % des cas, absence de surreprésentation raciale pour les autres
Sexe des animaux	Inconnu : 60 % des appels	Inconnu : 57 % (39/69) des animaux
	Mâles : 5 % des appels	Mâles : 7 % (5/69) des animaux
	Femelle : 31 % des appels	Femelles : 36 % (25/69) des animaux
	Mâle et Femelle* : 4 % des appels	
Age des animaux	Inconnu : 48 % des appels	Inconnu : 57 % des animaux
	Très jeune : 3 % des appels	Moins de 1 an : 17 % des animaux
	Jeune : 11 % des appels	De 1 à 6 ans : 17 % des animaux
	Adulte : 32 % des appels	Plus de 6 ans : 9 % des animaux
	Agé : 6 % des appels	

*Dans cette étude les appels concernant au moins un mâle et une femelle potentiellement intoxiqués sont comptabilisés indépendamment de ceux concernant uniquement un ou plusieurs chiens du même sexe.

Malgré des pourcentages d'absence de renseignements importants pour ces 3 caractéristiques des animaux intoxiqués, des conclusions peuvent être tirées de ces résultats :

-Influence de la race :

Ces deux études menées dans des centres antipoison ont conclu à une absence de surreprésentation raciale, de plus les cas démontrés dans la littérature recensent un grand nombre de races. Il semblerait peu probable qu'une sensibilité raciale différente à la toxicité des mycotoxines trémorigènes existe, cependant les races canines étant très diversifiées en termes de poids ou de comportement, il n'est pas exclu que les individus de certaines d'entre elles soient plus propices à ce type d'intoxication. En effet quelques races canines sont réputées pour leurs fortes proportions d'individus gloutons, dont notamment les labradors. La prédisposition génétique à une motivation pour la nourriture liée à une délétion a d'ailleurs été récemment identifiée chez de nombreux individus de cette race (Raffan et al., 2016). Ceux-ci pourraient donc en théorie être plus enclins à consommer un aliment altéré que des chiens d'autres races en raison de leur plus fort attrait pour la nourriture.

De plus dans la mesure où la dose toxique d'une substance se calcule toujours en fonction du poids de l'animal la consommant, il serait possible de considérer que les individus de grandes races de chiens soient moins aptes à trouver une quantité toxique suffisante pour leur intoxication que ceux des petites races. Néanmoins comme l'ont démontré les cas confirmés des chiens d'au moins 45 kg peuvent tout à fait être victime d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Walter, 2002), et

des consommations de l'ordre de quelques grammes d'aliments par kilogramme de poids corporel ont été à l'origine des troubles nerveux chez des chiens. Il ne semble donc pas que le poids soit un facteur de risque diminuant le risque d'occurrence d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes.

Enfin il ne faut pas négliger les différences d'effectifs entre les différentes races canines au sein d'un même pays ou d'une même région, qui pourraient laisser apparaître une plus forte probabilité d'exposition de certaines races en fonction de la zone géographique étudiée.

-Influence du sexe :

Le sexe de l'animal et son statut reproducteur entier ou stérilisé, ne semble pas non plus avoir une quelconque influence sur la possibilité de s'intoxiquer au pénitèrène A ou à la roquefortine C. En effet des cas cliniques recensant des intoxications de mâles, mâles castrés, femelles et femelles stérilisées sont répertoriés dans la littérature. Cependant les 2 études rétrospectives présentées relataient une surreprésentation des femelles par rapport aux mâles. Un des auteurs souligne que cette tendance était peut être liée au fait que lorsqu'un appel est reçu dans un centre antipoison et que le mot « chienne » est prononcé l'animal est immédiatement considéré comme une femelle. En revanche lorsque le terme « chien » est employé sans plus de précision, celui-ci ne peut être catégorisé en mâle ou en femelle et le sexe renseigné est alors inconnu (Lheureux et al., 2018). De plus, le pourcentage de genres inconnus étant supérieur à 50 % dans ces 2 études, la surreprésentation des femelles apparaît donc pas comme significative. Au final le sexe de l'animal ne semble pas être un facteur de risque influençant l'exposition des chiens aux mycotoxines trémorigènes.

-Influence de l'âge :

L'âge pourrait sembler à première vue constituer un facteur de risque important dans la susceptibilité à consommer un aliment altéré en raison de l'excitation naturelle que peuvent présenter un grand nombre de jeunes animaux et de leur caractère explorateur renforcé par rapport aux adultes, qui les pousse parfois à consommer certains éléments non comestibles de leur environnement (végétaux, jouets, excréments...). Dans les 2 études présentées ci-dessus : les adultes, et les jeunes étaient surreprésentés par rapport aux chiens âgés dans l'étude menée au CNITV (Adamczyk et al., 2016), et cette tendance était encore plus forte dans l'étude menée au CAPAE-Ouest où les chiens de moins de 1 an représentaient autant de cas que les chiens de 1 à 6 ans qui étaient eux-mêmes près de 2 fois plus nombreux que les chiens de plus de 6 ans. Cependant Lheureux souligne que l'âge des chiens était plus souvent renseigné lorsque ceux-ci étaient jeunes (Lheureux et al., 2018). De même ces conclusions sont à relativiser dans la mesure où l'âge de l'animal intoxiqué n'était connu que dans environ 1 cas ou 1 appel sur 2 dans ces publications, et parce que la proportion d'appels pour de jeunes animaux est toujours élevée pour les suspicions d'intoxication.

Cependant les chiots présentent une plus faible masse corporelle que les animaux plus âgés, et il a été démontré dans l'espèce ovine que les agneaux étaient plus sensibles au verruculogène que des moutons adultes (Evans and Gupta, 2018). Aucune étude n'existe cependant sur la sensibilité différentielle des chiens à ces toxiques en fonction de leur âge.

Malgré ces données suggérant que l'âge pourrait constituer un facteur de risque non négligeable dans l'occurrence d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, parmi les cas rapportés et démontrés par analyse sont recensés des chiens de quelques mois à plus de 10 ans. L'âge n'est donc aucunement un facteur d'exclusion de cette intoxication du diagnostic différentiel du clinicien.

En conclusion, ces études semblent indiquer que les chiens jeunes seraient plus susceptibles d'être victimes d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, mais que des chiens de tout âge peuvent être affectés. En revanche le sexe et la race des animaux ne paraissent pas être des facteurs de risque d'exposition à ces toxiques.

4. Circonstances d'exposition

a) L'intoxication aux noix moisies

Étant donné les 2 seules publications mentionnant des cas d'intoxications canines faisant suite à une consommation des noix moisies (J.S. Munday et al., 2008; Richard et al., 1981), l'essentiel des informations présentées dans cette partie sera issue des 2 études rétrospectives effectuées en centres antipoison français, présentées précédemment (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018)

L'intoxication aux noix moisies peut être qualifiée de naturelle, en effet l'homme n'est pas directement impliqué dans la synthèse des mycotoxines qui sont produites spontanément par des champignons dégradant les noix tombées sur le sol aux pieds des noyers. Il est tout à fait envisageable qu'un animal sauvage ait déjà consommé ce type de denrée alimentaire et ait été victime d'une intoxication au pénitèrme A ou à la roquefortine C, cependant aucune publication ne fait mention d'un tel empoisonnement sur un animal sauvage. Seuls des cas d'intoxications canines aux noix moisies sont rapportées, probablement en raison du comportement alimentaire de cette espèce et de sa proximité avec l'homme. L'intoxication d'animaux domestiques par consommation accidentelle de cerneaux de noix moisies initialement destinés à la consommation humaine est possible, néanmoins elle ne représente pas la majorité des cas d'intoxication (Adamczyk et al., 2016). De plus ces consommations se classent plutôt parmi les intoxications dues à la consommation aliments moisies divers décrite dans la partie (Partie I ; II) A) 1) 4. b)) suivante.

-Lieux d'intoxication :

Les possibles lieux de présence de noix moisies se restreignent aux milieux avec la présence de noyers. En France, le nom « noyer commun » fait référence à l'espèce *Juglans regia* originaire initialement d'Eurasie et dont l'aire de répartition s'étend de la Chine à l'Europe de l'Est. C'est un arbre à climat préférentiel continental, pouvant pousser naturellement jusqu'à 1000 m d'altitude et résistant au froid dans les zones tempérées. Par conséquent, en France c'est un arbre présent sur presque tout le territoire, mais qui est plus rare au niveau des littoraux océaniques et méditerranéens. La distribution du noyer commun sur le continent Européen est présentée sur la Figure 30 ci-après. Cette répartition d'arbres rendrait donc théoriquement l'intoxication aux noix moisies possible sur l'ensemble des régions du territoire métropolitain Français, à l'exception de quelques régions côtières notamment situées en Bretagne, d'autant plus que c'est un arbre fréquemment planté dans les jardins privés ou publics, les vergers et au bord des routes.

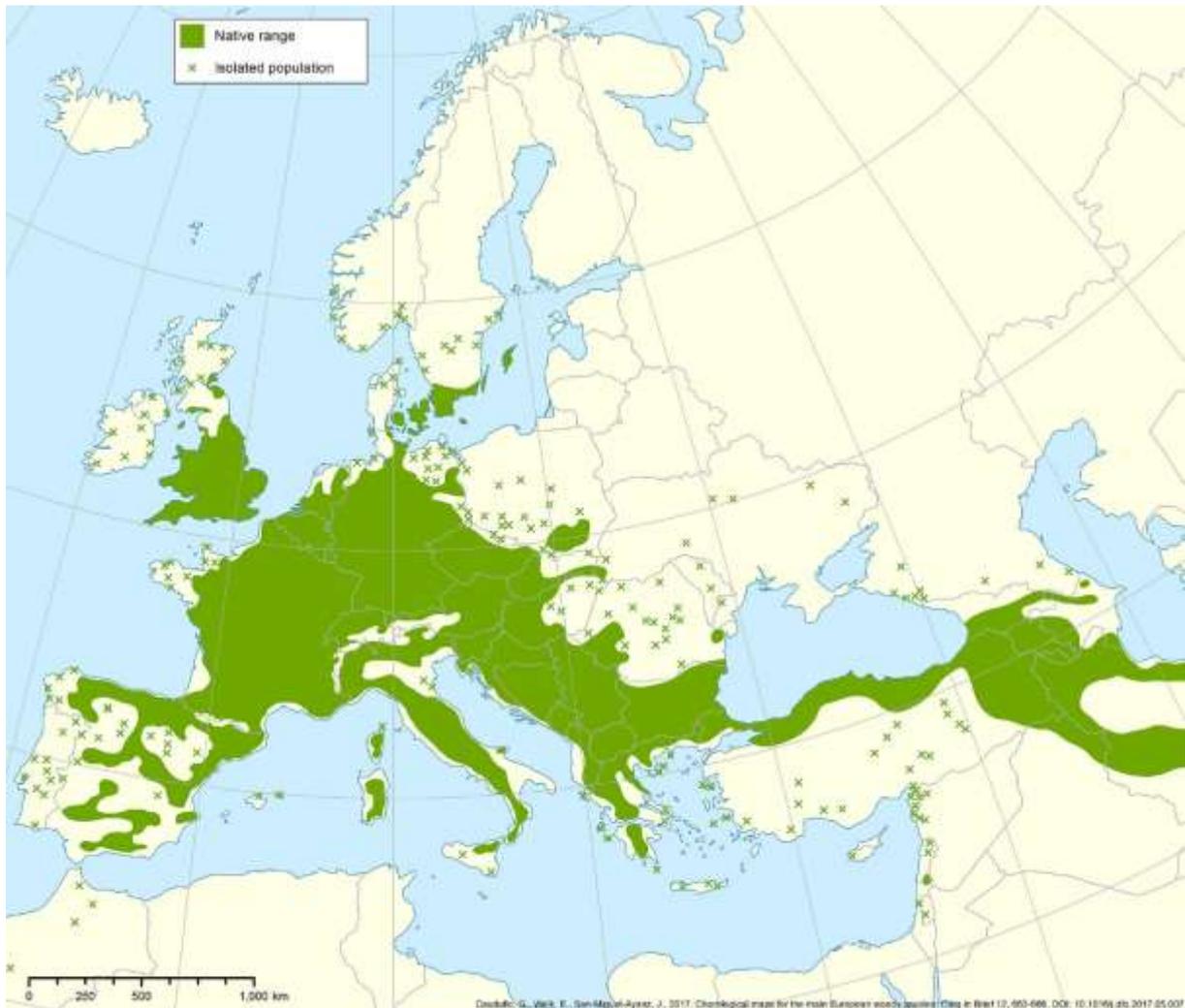


Figure 30 : Distribution du noyer commun (*Juglans regia*) en Europe (issu de Caudullo et al., 2017)

Ailleurs qu'en Europe et en particulier en Amérique du Nord d'autres espèces de noyers du genre *Juglans*, dont notamment *Juglans nigra*, sont présentes et ont déjà été responsables d'intoxications canines (Coleman and Merola, 2015). Dans cette étude rétrospective les auteurs ont cependant conclu que la consommation de fruits à coques provenant de ces noyers par des chiens entraînait la plupart du temps uniquement des vomissements chez ces derniers. En revanche les animaux ingérant du bois de ces arbres sous forme de copeaux, sciures, ou de branches, développaient majoritairement des signes nerveux. L'apparition de symptômes neuro-musculaires était 4 fois plus fréquente chez les chiens ayant ingéré du bois par rapport à ceux ayant mangé des noix (Coleman and Merola, 2015).

L'étude menée au CNITV a recensé le milieu extérieur comme lieu d'intoxication dans 76,3 % des appels et plus précisément le jardin des propriétaires dans 68,4 % des communications téléphoniques (Adamczyk et al., 2016). L'intoxication a majoritairement lieu en l'absence de surveillance du chien par le propriétaire : fugue de l'animal sans que l'on sache ce qu'il a pu manger, animal laissé sans surveillance dans un jardin avec présence d'un noyer, animal non tenu en laisse en balade... Mais étant donné le peu de propriétaires ayant connaissance de la présence de mycotoxines dans les noix au sol, il peut arriver que les animaux consomment ces fruits sous le regard de leurs maîtres, sans que ceux-ci ne suspectent le risque couru par leurs chiens.

-Période à risque :

Les noix tombent généralement des arbres au début de l'automne en France et leur récolte s'étend de mi-Septembre jusqu'à Novembre. La noix peut être consommée fraîche, ou conservée mais dans ce cas un séchage est nécessaire pour éviter leur pourrissement. Les noix restant au sol sont progressivement dégradées par différents types de micro-organismes, dont essentiellement des champignons. Les nutriments présents dans les noix sont alors utilisés par les espèces fongiques qui dégradent la matière organique. Parmi ces moisissures sont notamment retrouvées des espèces appartenant au genre *Penicillium*. La plus fréquente est *Penicillium crustosum* dont la présence dans des noix moisies a déjà été démontrée et associée à la présence de pénitrème A et/ou de roquefortine C (J.S. Munday et al., 2008; Richard et al., 1981).

Les études rétrospectives des centres antipoison sont très informatives au sujet des périodes où la fréquence des intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes est la plus importante en France, comme en témoignent les Figures 31 et 32 ci-dessous :

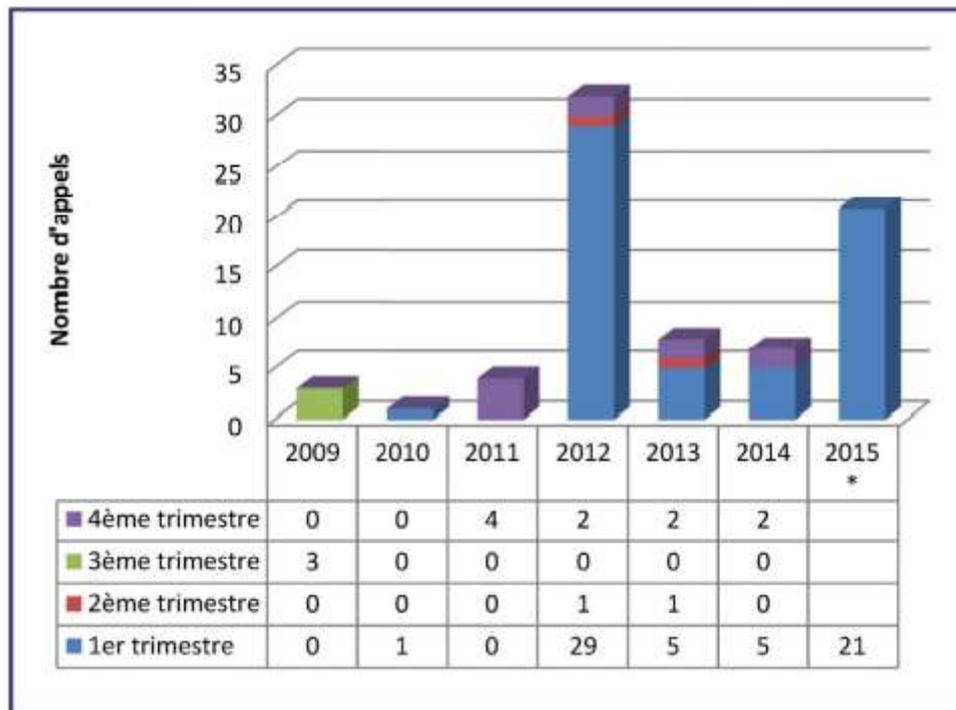


Figure 31 : Répartition annuelle et trimestrielle des appels reçus au CNITV pour des intoxications canines aux noix moisies jugées probables ou certaines entre 2009 et 2015 (issu de Adamczyk et al., 2016)

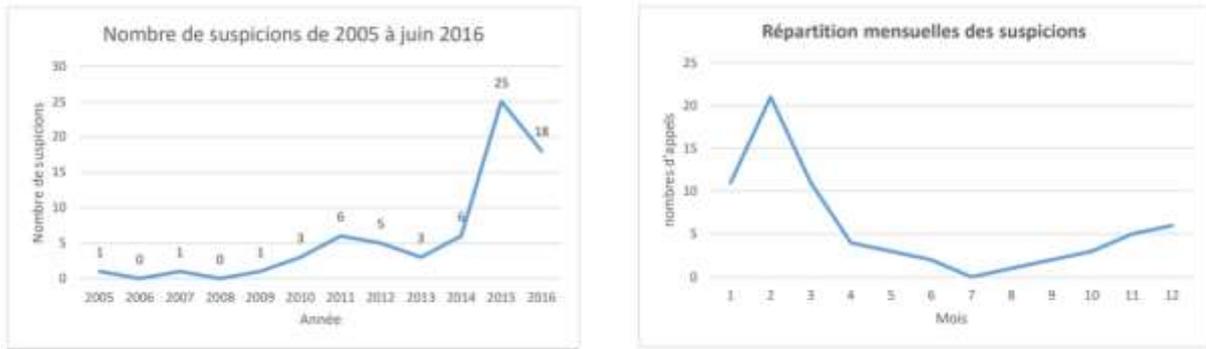


Figure 32 : Répartition annuelle et mensuelle des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes au CAPAE-Ouest de 2005 à Juin 2016 (issu de Lheureux et al., 2018)

Comme le montre la Figure 31 on observe que 80,3 % (61/76) des appels recensés au CNITV concernant une probable intoxication d'un chien aux noix moisies, ont eu lieu entre les mois de Janvier et Mars entre 2008 et 2015 (Adamczyk et al., 2016). Dans l'étude menée au CAPAE-Ouest de 2005 à 2016, la même surreprésentation des suspicions d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes a été observée entre Janvier et Avril, période qui recensait 68,1 % (47/69) de la totalité des cas. Bien que toutes les autres sources de mycotoxines aient été prises en compte en plus des noix moisies dans les données de cette dernière étude, celles-ci représentaient tout de même 55 % (38/69) des cas. Et comme le montre l'histogramme présenté sur la Figure 33, un seul appel concernant les noix moisies a été émis hors de la période automnale ou hivernale sur toute cette étude. De plus, celui-ci était lié à une consommation d'un fruit conservé de l'année passée (Lheureux et al., 2018).

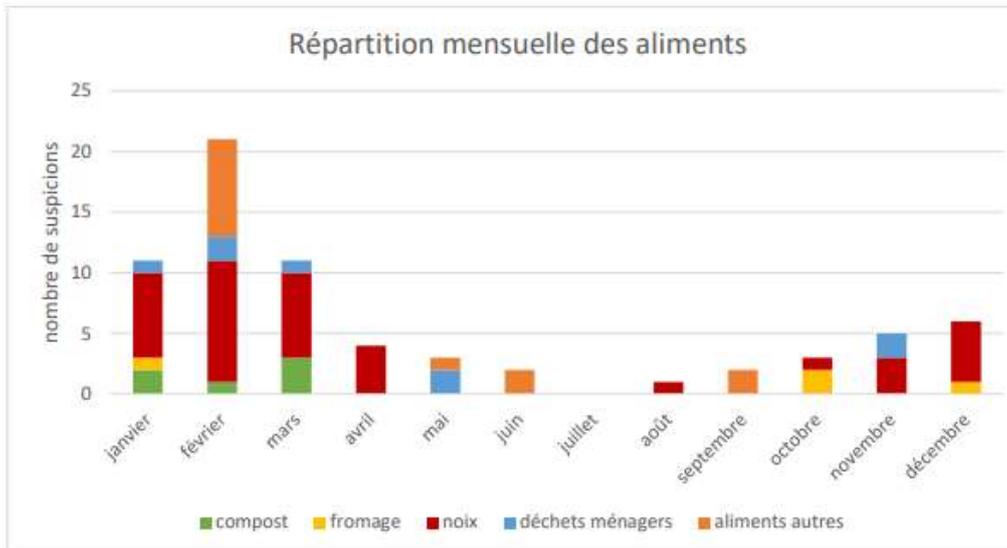


Figure 33 : Répartition mensuelle des catégories d'aliments dans les suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CAPAE-Ouest de 2005 à Juin 2016 (issu de Lheureux et al., 2018)

Ces observations témoignent de la caractéristique saisonnière de l'intoxication aux noix moisies des chiens domestiques, qui serait beaucoup plus fréquente durant les mois de Janvier, Février et Mars que durant le reste de l'année. Par déduction ces mois devraient donc correspondre à la période de concentration et de synthèse maximale de pénitrème A et roquefortine C par les moisissures. Or comme vu précédemment les paramètres environnementaux optimaux de synthèse de ces

mycotoxines s'observent pour le pénitèrme A à une température de plus de 20 degrés ce qui ne correspond pas aux températures hivernales métropolitaines. En revanche des conditions de faible luminosité, et de forte humidité propices à cette biosynthèse sont souvent présentes à ces périodes. D'autres facteurs environnementaux sont probablement encore favorables à la production de roquefortine C et de pénitèrme A, quoi qu'il en soit il apparaît clair qu'en France le premier trimestre annuel représente la période la plus à risque d'intoxication aux noix moisies pour les chiens.

De plus ces deux études ont mis en évidence une très grande variation annuelle du nombre d'appels ou de cas concernant les noix moisies, recensés par des centres antipoison. L'année 2012 a été marquée par un grand nombre d'appels (32) au CNITV, durant l'année 2015 les 2 centres antipoison ont référencé un grand nombre de suspicions (21 pour le CNITV, 25 pour le CAPAE-Ouest), enfin en 2016 le CAPAE-Ouest a répondu à 18 appels. Ces 3 années représentaient des pics de fréquences par rapport aux autres années où moins de 10 appels étaient généralement recensés. Cette variation s'expliquait probablement par les conditions météorologiques variables des hivers métropolitains en France, plus ou moins froids, humides ou ensoleillés. Les résultats de ces 2 études coïncidaient en 2015, mais pas sur l'année 2012 où seul le CNITV avait recensé bien plus d'appels comparé à sa moyenne annuelle. Ceci pouvait être lié au hasard ou représenter une différence non significative en raison du faible effectif des appels, voire même avoir été causé par un facteur non identifié : variation météorologique régionale, plus simple obtention du numéro d'un des deux centres antipoison lors de sa recherche....

b) L'intoxication aux aliments moisies

Au contraire de l'intoxication naturelle aux noix moisies, et à l'exception de la très rarement rapportée consommation d'autres fruits tombés au sol et en décomposition par les chiens domestiques, l'ingestion d'aliments altérés, autres que des fruits, par l'espèce canine est très souvent liée à l'activité humaine. En effet il est possible de distinguer différents scénarios pour ces cas d'intoxication :

-La consommation accidentelle de déchets alimentaires issus d'une poubelle : le développement de moisissures au sein des aliments jetés peut débuter avant ou après la mise au rebut de ceux-ci. Dans tous les cas la probabilité de présence des mycotoxines dans ces substrats augmente avec le temps d'entreposage des déchets dans la poubelle. Dans ces cas d'intoxication le contenu de la poubelle est souvent connu par le propriétaire s'il s'agit d'un collecteur de déchet domestique, au contraire il n'est que très peu rapporté s'il s'agit d'un collecteur de déchets collectifs, ou d'une poubelle publique. L'analyse de la composition des déchets est très importante, pour évaluer la probabilité de présence d'aliments moisies, mais surtout pour écarter la présence d'autres toxiques non alimentaires pouvant également avoir été jetés dans le même contenant.

-La consommation accidentelle d'une denrée alimentaire entreposée par l'homme, non destinée initialement au chien : ce cas de figure fait souvent suite à l'accès non désiré d'un chien à un lieu où sont entreposés des aliments conservés (tels que des noix ou autres fruits secs de l'année passée ; des fruits ou légumes en train de moisir...). Le propriétaire a alors souvent connaissance de cet écart alimentaire et le signale aux vétérinaires si le chien est présenté en consultation.

-La consommation d'une denrée altérée donnée volontairement par le propriétaire à son animal : ce scénario pourrait à première vue sembler peu fréquent et même peu responsable de la part d'un propriétaire consciencieux, néanmoins il représente une part non négligeable des intoxications. En effet avant l'utilisation massive de la nourriture industrielle sèche pour l'alimentation des carnivores

domestiques, dont les débuts ont eu lieu durant les années 70, les chiens domestiques étaient historiquement nourris avec des restes de table ou de cuisine. La consommation de ces restes alimentaires humains par les chiens domestiques est encore très fréquente de nos jours, probablement en raison de l'attrait que peuvent montrer certains animaux de compagnie pour ces denrées et de la sensation positive que perçoivent les propriétaires en regardant leurs compagnons ingérer ces denrées. Si dans l'immense majorité des cas aucune intoxication n'a lieu après une telle consommation en raison de l'absence de mycotoxines trémorigènes dans l'aliment, dans certaines circonstances particulières le risque de production de ces métabolites est accru. Ainsi des remarques telles que : « les chiens sont capables de reconnaître ce qui est bon pour eux » ; « les chiens ont un estomac plus acide que l'homme et peuvent donc manger des aliments altérés » ; « Si l'aliment n'était plus consommable il ne le mangerait pas » ; ne sont, de nos jours, pas rares de la part des propriétaires d'animaux en France. Il arrive donc fréquemment que certains d'entre eux donnent volontairement des aliments périmés, des restes de plats conservés trop longtemps et jugés impropres à la consommation humaine (en particulier lors de l'apparition de moisissures sur ces derniers) à leurs chiens. Certains substrats alimentaires très fréquemment consommés par l'homme semblent d'ailleurs propices au développement des mycotoxines trémorigènes dont notamment les féculents cuits (Naudé et al., 2002; Young et al., 2003), le pain (Hocking et al., 1988) et les fromages (Arp and Richard, 1979; Young et al., 2003).

-La consommation de compost : l'intoxication aux mycotoxines par consommation de compost survient fréquemment lors d'une balade en liberté du chien ou lorsque celui-ci se retrouve non surveillé dans un jardin. La composition des composts est extrêmement variable d'un tas à l'autre, en raison de la nature des déchets végétaux les composant. Cependant l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes par consommation de compost serait probablement bien plus liée à la consommation des restes alimentaires humains ajoutés sur celui-ci, qu'aux résidus de végétaux en décomposition. Les denrées alimentaires impliquées sont majoritairement des épluchures de fruits et légumes, mais il n'est pas rare de trouver des aliments n'ayant normalement pas leur place en grande quantité dans un compost (restes de féculents cuits, fromages, peau et arrêtes de poisson, gras de viande ou de jambon, pain rassis, coquilles d'œuf...). Ces derniers peuvent être grandement appétants pour les chiens qui auront alors plus tendance à consommer du compost (Naudé et al., 2002). Or la très forte présence de moisissures sur un tas de compost favorise l'altération rapide de la matière organique et augmente fortement le risque de présence de mycotoxines sur ces restes (Kothary et al., 1984). Dans ces cas d'intoxication, outre la possibilité que le propriétaire ait vu le chien consommer des éléments en surface d'un tas de compost, des traces de souillures au niveau du museau ou des pattes de l'animal peuvent être de très bons indicateurs d'une telle consommation.

-La consommation d'un substrat alimentaire inconnu suite à une fugue ou à la perte du contact visuel de l'animal en ballade : ce contexte d'intoxication est très fréquent, plusieurs auteurs y font référence dans la littérature (Eriksen et al., 2010; Lowes et al., 1992; Tiwary et al., 2009). Étant donné l'absence d'anamnèse dans ces cas, le diagnostic différentiel du clinicien n'est pas aisé. En effet non seulement une origine toxique des symptômes nerveux observés doit être suspectée, mais de plus les mycotoxines trémorigènes doivent être incluses dans le diagnostic différentiel du vétérinaire. Néanmoins si des vomissements ont déjà eu lieu, ou si l'état du chien permet encore l'induction de l'évacuation de son contenu gastrique, l'examen de la composition, de la couleur et de l'odeur de celui-ci peut parfois confirmer la consommation de moisissures, compost ou de déchets divers (Walter, 2002; Young et al., 2003).

2) Symptômes

Étant donné les diagnostics de certitude analytiques effectués sur les 29 cas bibliographiques présentés en Annexe 1, l'analyse statistique des symptômes présentés par ces animaux est très intéressante, car ils constituent des cas certifiés d'intoxication. Celle-ci a donc été réalisée et sera dans cette partie comparée aux symptômes relevés lors de suspicions d'intoxication recensées durant 2 études rétrospectives, menées grâce aux données des 2 centres antipoison Français : le CNITV (Adamczyk et al., 2016) et le CAPAE-Ouest (Lheureux et al., 2018).

1. Délai d'apparition des symptômes

Dans les 29 cas démontrés d'intoxication au pénitrème A ou à la roquefortine C, le délai d'apparition des symptômes était connu pour 16 d'entre eux, cependant celui-ci était parfois désigné par sa limite maximale en raison d'une incertitude concernant le moment de consommation du toxique ou d'apparition des premiers signes cliniques. La durée de ce délai variait de légèrement moins de 30 minutes à une durée de 4 h, sauf pour un cas où le temps de latence des symptômes est connu mais très imprécis « moins de 12 h ». En prenant les limites maximales lors des incertitudes et en excluant le seul cas avec un délai d'apparition non précis et supérieur à 4 h, une moyenne de délai d'apparition des premiers symptômes d'environ 2 h et 20 minutes a été obtenue, cette valeur étant donc probablement surestimée. Les signes cliniques sont apparus en moins de 1 h chez 25 % des chiens, en moins de 2 h pour 62,5 % des animaux et moins de 3 h pour 87,5 % d'entre eux. Aucune durée précise d'apparition de signes cliniques supérieure à 4 h n'a donc été relevée lors des cas d'intoxication démontrés par analyse. Cette analyse des délais d'apparition de symptômes des cas démontrés d'intoxication est représentée sur la Figure 34 suivante :

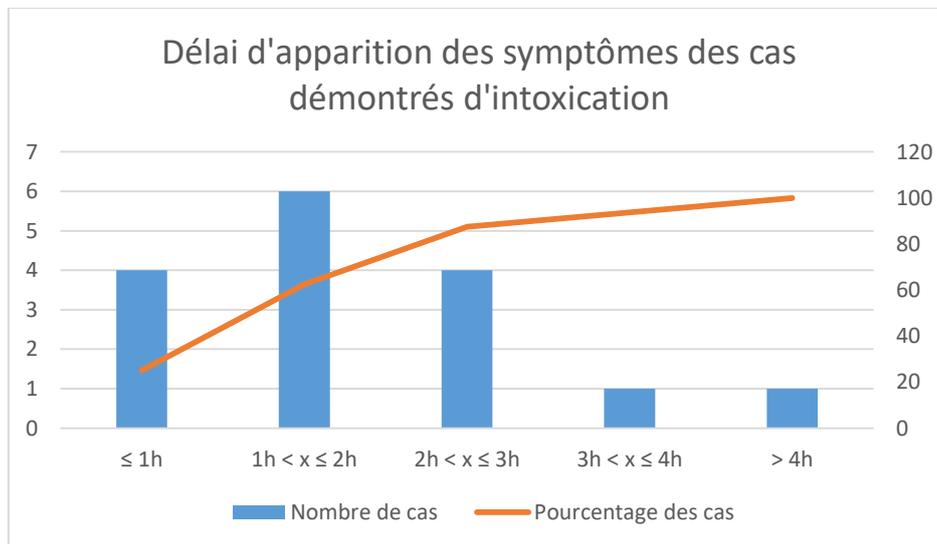


Figure 34 : Délai d'apparition des signes cliniques dans les cas démontrés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

L'étude menée par le CAPAE-Ouest a déterminé un délai moyen d'apparition des symptômes de 2 h, avec les temps de latence de symptômes les plus fréquents se situant entre 30 minutes et 1 h, puis entre 1 et 2 h (Lheureux et al., 2018). Dans l'étude menée par le CNITV sur les 76 appels reçus, celui-ci était : inconnu dans 28 % des appels, inférieur à 1 h dans 5 % des appels, situé entre 1 à 12 h pour 66 % des appels et supérieur à 12 h pour seulement 1 % des appels (Adamczyk et al., 2016).

Toutes ces données indiquent que les symptômes liés à l'ingestion de mycotoxines trémorigènes semblent apparaître dans un délai de 30 minutes à 4 h après la consommation du toxique. Ce temps de latence pourrait être très occasionnellement légèrement plus long, mais ne semble pas pouvoir dépasser quelques heures.

2. *Nature des symptômes*

Les symptômes apparaissant chez les chiens victimes d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes peuvent être regroupés en plusieurs groupes : les symptômes neuro-musculaires, les troubles digestifs, les symptômes généraux (modification de la température, symptômes cardiaques et respiratoires, abattement), les modifications comportementales (agressivité, excitation) et les autres symptômes (signes oculaires, urinaires...).

La fréquence des symptômes sera étudiée grâce aux données des cas d'intoxication démontrés de la littérature et des deux études rétrospectives effectuées dans des centres antipoison Français. Des différences d'expression des résultats existent entre ces publications. En effet l'étude menée par Adamczyk au CNITV a recensé les pourcentages des appels mentionnant les différents signes cliniques. Bien que ces appels aient pu concerner plusieurs chiens intoxiqués, 77,6 % d'entre eux ont été émis pour le traitement d'un unique animal (Adamczyk et al., 2016). Le travail rétrospectif effectué par Lheureux au CAPAE-Ouest a lui répertorié les pourcentages d'animaux intoxiqués présentant ces symptômes (Lheureux et al., 2018).

De plus, il faut signaler que les symptômes des animaux intoxiqués, présentés dans des articles scientifiques, sont souvent beaucoup plus précis et détaillés, que ceux transmis par un vétérinaire ou un particulier contactant un centre antipoison vétérinaire. Ainsi lors d'un appel de courte durée destiné à un centre antipoison, il est très fréquent que des symptômes ne soient pas signalés à l'interlocuteur du centre antipoison par l'appelant. Les fréquences des symptômes de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes déduites d'études rétrospectives menées grâce à des bases de données de centres antipoison sont donc naturellement légèrement inférieures aux fréquences réelles des signes cliniques observés.

a) Les symptômes neuro-musculaires

Des symptômes neuro-musculaires étaient présents dans la quasi-totalité des intoxications aux mycotoxines trémorigènes chez le chien. Parmi eux ce sont les trémulations musculaires généralisées qui ont été les signes les plus souvent observés, celles-ci ayant été rapportées dans plus 60 % des cas des publications étudiées et jusqu'à près de 90 % des cas démontrés. Ces tremblements concernaient quasiment toujours l'intégralité du corps de l'animal, et pouvaient être d'intensité variable.

Les convulsions ont été le deuxième symptôme le plus fréquemment rapporté. La nature tonique ou clonique de celles-ci n'a été mentionnée que dans très peu de cas, mais ces 2 types de crises convulsives ont déjà été observés. Les crises cloniques ont plus souvent été identifiables dans les publications en raison de la mention de « pédalage » dans la liste des observations. Leur apparition pouvait être brutale et l'intensité de celles-ci allait parfois jusqu'à rendre très dangereux tout contact avec l'animal.

De l'ataxie a été rapportée chez près de 30 % des chiens intoxiqués dans les données des centres antipoison, mais celle-ci a été 2 fois plus fréquemment décrite dans les cas démontrés. Cette ataxie pouvait apparaître dès le début de l'intoxication voire même avant les tremblements ou les convulsions, cependant en présence de ces 2 autres symptômes il était parfois compliqué de juger de l'équilibre et de la coordination motrice des chiens tant leur comportement était altéré. C'est d'ailleurs probablement pour cette raison que de l'ataxie résiduelle postérieure à la phase de crises convulsives a régulièrement été décrite dans les cas démontrés. Celle-ci peut d'ailleurs perdurer plusieurs jours après l'intoxication, voire même ne jamais cesser dans de très rares cas (Eriksen et al., 2010).

La présence d'hyperesthésie a été rapportée dans 15,9 % des cas dans l'étude du CAPAE-Ouest et dans 34,5 % des cas démontrés, celle-ci se composait majoritairement d'une hypersensibilité au bruit avec des réactions exacerbées à des stimuli auditifs. Quelques cas d'hyperesthésie liés au sens du toucher ont également été rapportés.

Les autres symptômes nerveux ayant déjà été recensés dans ce type d'intoxication mais dont la fréquence a été moindre ont été : un nystagmus, tout de même présent chez près de 20 % des cas d'intoxication démontrés, et une position d'opisthotonos, chez 17,2 % de ceux-ci, mais ces 2 signes ont été bien moins rapportés dans l'étude du CAPAE-Ouest. Enfin le basculement de l'animal dans un état comateux n'a concerné qu'aux alentours de 5 % des animaux intoxiqués dans ces données.

Le Tableau VI ci-dessous regroupe les fréquences des différents troubles neuro-musculaires recensés durant les études de Adamczyk et Lheureux et celles déterminées pour les cas démontrés d'intoxication :

Tableau VI : Fréquence des symptômes neuro-musculaires chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes

Publications	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Nombre de cas démontrés, de suspicions, ou d'appels	76 appels	69 suspicions d'intoxication	29 cas démontrés d'intoxications
Présence de signes neuro-musculaires	100 %	93 %	100 %
Trémulations musculaires	77,6 %	63,8 %	89,7 %
Convulsions	30,3 %	33,3 %	70 %
Ataxie	30,3 %	27,5 %	58,6 %
Hyperesthésie	Absence de données	15,9 %	34,5 %
Hyper sensibilité au bruit	Absence de données	Absence de données	17,2 %
Nystagmus	Absence de données	5,8 %	20,7 %
Opisthotonos	Absence de données	2,9 %	17,2 %
Coma	Absence de données	4,3 %	6,9 %

Comme en témoigne le Tableau VI, la fréquence de tous les troubles neuro-musculaires est largement supérieure dans les cas démontrés par analyse, décrits dans des publications que dans les études rétrospectives de centres antipoison. Ceci s'explique en partie par l'apparition successive de ces symptômes au cours de l'intoxication, qui n'étaient donc pas forcément déjà présents au moment des sollicitations des centres de toxicologie. De même la probable omission de signalement de certains symptômes peut également accentuer cette différence de fréquence.

Les symptômes nerveux pouvant être causés par des mycotoxines trémorigènes sont très impressionnants pour un propriétaire, et de ce fait ils sont très simples à détecter. Ils constituent souvent le motif de consultation de l'animal et entraînent fréquemment une consultation d'urgence chez un vétérinaire lors de leur occurrence.

b) Les troubles digestifs

Les signes digestifs ont été le deuxième groupe de symptômes le plus rapporté dans les cas démontrés ou suspectés d'intoxication aux denrées moisies, leur présence est effectivement mentionnée dans légèrement plus d'un cas sur 2 de la bibliographie.

Les vomissements spontanés ont été de très loin le symptôme digestif le plus fréquent, ils concernaient entre 44,7 % et 50,7 % des cas étudiés. Ceux-ci se sont souvent déclarés avant la consultation du vétérinaire. Cependant il est aussi arrivé qu'ils se déclenchent après l'apparition des troubles nerveux, ce qui a alors causé un risque élevé de fausse déglutition.

Le mécanisme de déclenchement des vomissements par les mycotoxines trémorigènes est à ce jour totalement inconnu. Certains auteurs suggèrent que des vomissements rapides faisant suite à l'ingestion de denrées alimentaires altérées pourraient réduire la durée et l'intensité des signes cliniques chez les chiens intoxiqués (Boysen et al., 2002).

L'hypersalivation a été le second signe digestif le plus fréquemment rapporté mais il n'a concerné que 1 à 2 chiens sur 10 selon les études. En outre il était compliqué de juger de la présence d'une salivation excessive en présence de vomissements. De plus ce signe peu spécifique et avec peu de conséquences, a pu paraître négligeable par rapport aux autres symptômes, c'est pourquoi il a probablement été souvent omis lors de la description téléphonique des cas cliniques au cours des appels passés aux centres antipoison.

Enfin de la diarrhée et des défécations involontaires n'ont été rapportées qu'à de très rares occasions.

Le Tableau VII ci-dessous regroupe les fréquences des différents troubles digestifs rapportés dans les études et les publications analysées :

Tableau VII : Fréquence des troubles digestifs chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes

Publications	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Présence de signes digestifs	53,9 %	67 %	55,2 %
Vomissements	44,7 %	50,7 %	44 %
Hypersalivation	21,1 %	11,6 %	13 %
Diarrhée	Absence de données	7,2 %	3,4 %
Défécation	Absence de données	7,2 %	3,4 %

c) Les symptômes généraux

L'altération de l'état général n'a été que très rarement transmise lors d'appel de praticiens à des centres antipoison, en raison de l'urgence de la situation et du fait qu'il paraissait évident qu'un chien en crise convulsive ou victime de tremblements puisse présenter une modification de ses constantes cardiaques, respiratoires et de température. Ceci explique que ces symptômes « généraux » soient probablement sous évalués dans les études rétrospectives des centres antipoison.

De l'abatement a été rapporté dans 15,9 % des cas de l'étude de Lheureux et dans 20,7 % des cas démontrés, celui-ci pouvait prendre la forme d'une prostration ou d'une léthargie selon le cas. La position de décubitus latéral chez un animal a été rapportée dans de rares cas d'intoxication, celle-ci est apparue précocement avec la découverte du chien dans cette position par le propriétaire ou plus tardivement, probablement en raison de la fatigue contractée par l'animal pendant les phases de crises convulsives ou de tremblements.

La variation de la température corporelle a été rapportée dans environ un tiers des cas démontrés, elle l'a cependant beaucoup moins été dans les 2 autres études présentées puisqu'elle n'est signalée que dans 9,2 % à 15,9 % des cas. Cette hyperthermie pouvait être très importante, ainsi des températures supérieures à 41 °C ont déjà été relevées sur 4 chiens ayant ingéré du compost. Les mêmes chiens ont par la suite présenté une forte diminution de leur température corporelle entre 33,6 et 36,1 °C (Boysen et al., 2002). Dans les autres cas d'intoxication démontrés la valeur de la température se situait généralement entre 40 et 41 °C. L'hypothermie est restée en revanche très rare. À l'exception de cette intoxication multiple rapportée dans la littérature, aucun autre cas d'intoxication démontré ne mentionne ce symptôme et il n'était présent que dans 5,8 % des cas décrits dans l'étude rétrospective du CAPAE-Ouest.

Les troubles cardio-vasculaires ont été présents dans près d'un tiers des cas démontrés d'intoxications, mais ne l'ont été que dans moins de 5 % des études issues de centres antipoison. La tachycardie a été la modification du fonctionnement cardiaque la plus fréquemment rencontrée dans ce contexte. Les bradycardies, l'hypotension et les congestions des muqueuses ont été très rarement mentionnées avec une ou deux occurrences rapportées uniquement. Cependant ces modifications du système cardiovasculaires ont sûrement été très sous diagnostiquées dans les suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes en raison de la nécessité du traitement d'urgence des troubles neuro-musculaires.

Enfin des signes respiratoires ont également été présents chez certains chiens intoxiqués, leur fréquence a même été assez importante avec légèrement plus de 40 % des animaux selon les cas bibliographiques. Néanmoins les trois quarts de ces derniers étaient uniquement constitués d'halètements intenses, de polypnées et de tachypnées sans facteur de gravité pour l'animal. Les cas de détresses respiratoires, d'hypoventilations ou d'apnées n'ont été rapportés que chez 10,4 % des cas démontrés, ils ont alors cependant constitué de réelles urgences et ont nécessité la mise sous assistance respiratoire des animaux.

Le Tableau VIII ci-dessous résume les fréquences des différents signes généraux apparus chez des chiens suspectés ou victimes d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes relatées dans la littérature :

Tableau VIII : Fréquence des symptômes généraux chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes

Publications	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Abattement, prostration, décubitus latéral	Absence de données	15,9 % (abattement et léthargie) 4,3 % (décubitus latéral)	20,7 %
Hyperthermie	9,2 %	15,9 %	34,5 %
Hypothermie	Absence de données	5,8 %	13,8 %
Troubles cardio-vasculaires	5,2 %	Absence de données	34,5 %
Tachycardie	2,6 %	1,4 %	31 %
Bradycardie	1,3 %	Absence de données	3,4 %
Hypotension	1,3 %	Absence de données	6,9 %
Congestion des muqueuses	Absence de données	Absence de données	6,9 %
Troubles respiratoires	Absence de données	Absence de données	41,4 %
Tachypnée/polypnée, halètement	Absence de données	Absence de données	31 %
Détresse respiratoire, apnées, hypoventilation	Absence de données	Absence de données	10,4 %

d) Les modifications comportementales

Des modifications du comportement pourraient être décrites dans la quasi-totalité des cas d'intoxication en raison de la forte atteinte de l'état général et du comportement des chiens par les troubles neuro-musculaires très fréquents. Dans cette catégorie de symptômes nous considérons donc exclusivement l'augmentation de l'agressivité et de l'excitation des animaux. En particulier l'hyperesthésie n'est pas incluse dans ces altérations de comportement. La mention de ces deux modifications du comportement par les praticiens est très dépendante de la personne décrivant le cas. Il n'est effectivement pas rare que les vétérinaires ne considèrent pas ces troubles du comportement comme des symptômes à proprement parler mais plutôt comme des conséquences de leurs symptômes nerveux. Quelle qu'en soit l'origine, une excitation des chiens intoxiqués a été rapportée chez environ 1 chien sur 10 dans les cas bibliographiques, et l'étude de Lheureux a rapporté de l'agressivité chez 8,7 % des animaux. Ces modifications comportementales bien que rarement mentionnées, ont en revanche une importance clinique majeure car elles peuvent fortement limiter l'examen clinique et les premiers soins dont notamment la pose d'un cathéter, chez les chiens intoxiqués. Le tableau IX ci-dessous résume les fréquences des modifications comportementales des chiens intoxiqués, déterminées dans l'étude de Lheureux et dans les cas démontrés d'intoxication.

Tableau IX : *Fréquence des modifications comportementales chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes*

Publications	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Modifications comportementales	Absence de données	21,7 %	10,3 %
Agressivité	Absence de données	10,1 %	0 %
Excitation	Absence de données	8,7 %	10,3 %

e) Les autres symptômes

Les autres symptômes signalés dans des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ont notamment été oculaires, avec la présence d'une mydriase bilatérale dans environ 10 % des cas démontrés par analyse. Quelques mictions involontaires, en amont des convulsions ou lors de celles-ci ont aussi été décrites, mais sont restées anecdotiques. Ces fréquences sont détaillées sur le Tableau X ci-dessous :

Tableau X : *Fréquence des mydriases et des mictions involontaires chez des fortes suspicions ou des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes*

Publications	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas bibliographiques
Mydriase	Absence de données	8,7 %	10,3 %
Miction involontaire	Absence de données	4,3 %	3,4 %

Enfin d'autres symptômes très peu fréquents mais ayant déjà été rapportés peuvent encore être mentionnés : anorexie (Lheureux et al., 2018), flatulences (Eriksen et al., 2010), hallucinations (Hocking et al., 1988).

f) Modifications biochimiques, de l'hémogramme et de l'ionogramme

Une étude menée en 2010 a permis de réaliser des bilans sanguins sur 3 chiens : l'un intoxiqué à plusieurs pénitèrèmes, et les 2 autres au pénitèrème A et à la roquefortine C. Les résultats de ces analyses ont montré une absence d'anomalies dans les numérations formules sanguines et les ionogrammes des animaux atteints, ainsi que des valeurs de cholestérolémie, glycémie et globulinémie dans les normes. De plus la créatininémie et l'urémie n'étaient que légèrement augmentées chez 1 seul de ces 3 animaux. En revanche les activités des enzymes hépatiques (phosphatases alcalines (PAL), alanine aminotransférases (ALAT), aspartate aminotransférases (ASAT)) étaient augmentées dans les 10 jours suivant l'intoxication chez ces 3 animaux. Ces modifications pourraient être liées à l'effet direct des mycotoxines, aux effets secondaires des médicaments administrés ou encore à l'intense activité musculaire ayant lieu durant les crises convulsives. Mais l'élément le plus marquant dans cette étude a été la forte augmentation de la concentration sanguine en créatinine phosphokinases (CPK), normalement présente à une concentration entre 0 et 200 U/L de sang, et dont les valeurs dans les 4

jours suivant les intoxications ont atteint jusqu'à 2896 U/L. Cette augmentation serait, selon les auteurs, très probablement causée par l'hyperactivité des rhabdomyocytes lors des tremblements ou des convulsions (Eriksen et al., 2010).

Les examens complémentaires de mesure des paramètres biochimiques sanguins, de détermination de l'hémogramme et de l'ionogramme sont donc peu informatifs dans le cas d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Outre la détection d'une atteinte hépatique modérée et d'une lyse musculaire, secondaire aux troubles nerveux, ils n'apportent aucune information diagnostique. Ils peuvent néanmoins suggérer la nécessité d'un traitement de soutien hépatique ou rénal. L'intérêt de la réalisation de ces mesures en cas d'urgence ou lors d'une forte suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes est donc limité.

3. Fréquence et ordre d'apparition des symptômes

La Figure 35 ci-dessous résume la fréquence d'apparition des différents groupes de symptômes décrits précédemment, lors de suspicions ou d'intoxications canines démontrées aux mycotoxines trémorigènes :

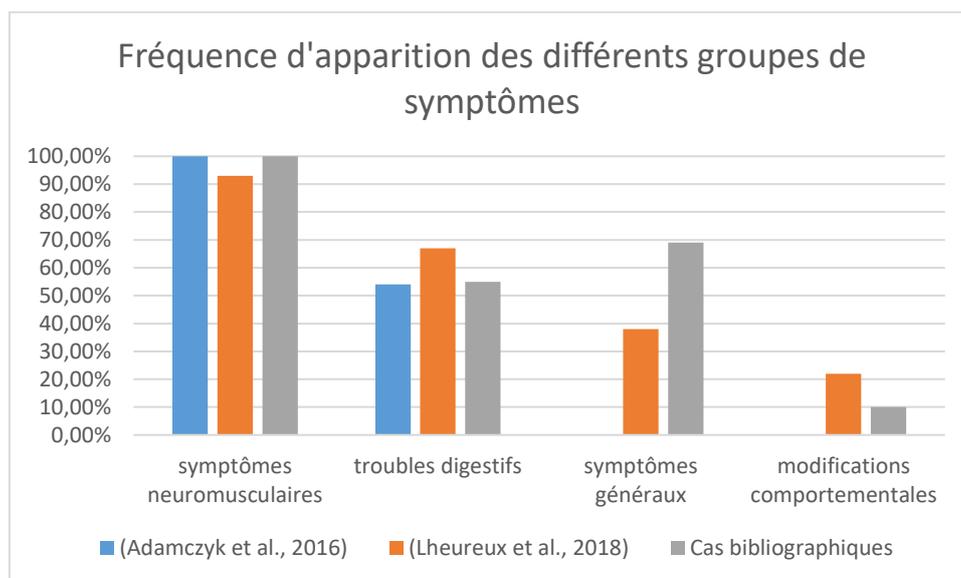


Figure 35 : fréquence d'apparition des différents groupes de symptômes lors d'une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes

Les signes neurologiques étant présents dans la quasi-totalité des cas, contrairement aux autres catégories de symptômes dont la fréquence ne dépasse pas les 70 %, il serait probable que ceux-ci arrivent majoritairement les premiers. Néanmoins les vomissements rapportés sont généralement précoces et précèdent souvent les signes neuro-musculaires lorsqu'ils sont présents. Ils ont souvent déjà eu lieu avant l'admission en clinique de l'animal. Cependant les signes nerveux restent tout de même fréquemment les premiers troubles apparaissant chez les chiens intoxiqués, et de par leur caractéristique impressionnante ils motivent généralement plus rapidement les propriétaires à consulter un vétérinaire, que de simples signes digestifs.

Très peu d'indications sur l'ordre d'apparition, l'enchaînement et la durée exacte de chaque type de symptômes sont présents dans la littérature. Souvent seul le tableau clinique général de l'animal est décrit. Pourtant l'ordre d'apparition relatif des signes digestifs et neuro-musculaires revêt une importance capitale dans la prise en charge thérapeutique des animaux intoxiqués. En effet si des convulsions ou des trémulations musculaires intenses ont lieu simultanément, ou très peu après des vomissements, le risque de pneumonie d'aspiration liée à une fausse déglutition n'est pas à négliger. Quatre cas de telles pneumonies sont en effet répertoriés dans la littérature (Boysen et al., 2002; Lowes et al., 1992; Walter, 2002; Young et al., 2003). Cependant lors de ceux-ci un lavage gastrique avait toujours eu lieu avant l'apparition de la pneumonie.

4. Durée et persistance des symptômes, pronostic, séquelles et taux de létalité

La durée des symptômes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes en l'absence de traitement est inconnue. Ainsi au vu de la nature et la gravité des signes cliniques des chiens atteints, la mise en place d'un traitement a été omniprésente dans les cas démontrés d'intoxications rapportés dans la littérature, à l'exception d'un cas où une rémission totale a été obtenue en quelques heures (Eriksen et al., 2010). Le délai de récupération des chiens victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes, démontrée par analyse, est présenté dans la Figure 36 ci-dessous :

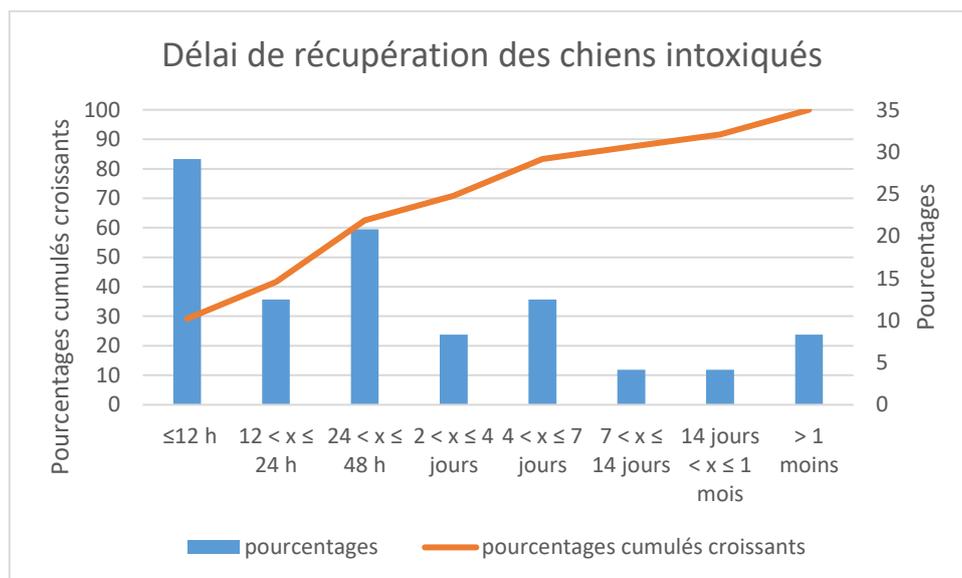


Figure 36 : Délai de récupération des chiens suite à une intoxication aux mycotoxines trémorigènes

Lors de la mise en place d'un traitement adapté la durée d'évolution des différents signes cliniques a été variable. Avec un traitement symptomatique et éliminatoire, les symptômes des chiens atteints ont majoritairement rétrogradé en moins de 48 h, cela a en effet concerné 62,5 % des cas démontrés. Munday et ses coauteurs ont suggéré que lorsque l'animal parvient à survivre à l'intoxication les symptômes rétrogradent en général en moins de 4 jours (J.S. Munday et al., 2008). Néanmoins certains symptômes et en particulier de l'ataxie résiduelle, et de légers tremblements peuvent persister jusqu'à quelques semaines après l'intoxication sans engager le pronostic vital de l'animal (Eriksen et al., 2010). Dans ce sens, les chiens intoxiqués avec certitude aux mycotoxines trémorigènes et décédés naturellement ou dont l'état a justifié une euthanasie, n'ont pas survécu plus de 48 h après l'intoxication.

Enfin certains auteurs ont même témoigné de rares cas avec une persistance de séquelles plusieurs mois voire plusieurs années après l'intoxication : un Staffordshire Bull Terrier ayant mis 13 jours à pouvoir à nouveau marcher après son intoxication, a conservé un syndrome cérébelleux qui n'a rétrocedé qu'au bout de 6 mois ; et un caniche a conservé une ataxie modérée au moins trois ans après l'ingestion de mycotoxines trémorigènes (Eriksen et al., 2010). Ces 2 animaux ont été victimes d'intenses convulsions lors de de la phase initiale de leur intoxication, ce qui laisse suggérer de possibles lésions nerveuses irréversibles du système nerveux central.

Le taux de létalité de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien était de 17,2 % (5/29) pour les cas démontrés par analyse. Ce nombre était important par rapport à celui trouvé dans les études menées en centre antipoison : 10,1 % (7/69) (Lheureux et al., 2018) et 5,4 % (3/56) (Adamczyk et al., 2016). Cette différence peut probablement s'expliquer en partie par une absence de publication des intoxications sans gravité de la part des auteurs, par manque d'intérêt pour les lecteurs. Au contraire dans les études menées grâce aux données de centres antipoison, n'effectuant pas de suivi des cas lors d'appels d'urgence, la mortalité des chiens suspectés d'être intoxiqués est probablement sous-estimée. Dans tous les cas il est à noter que le taux de mortalité de cette intoxication n'est pas à négliger, la perte d'un chien sur 6 à 1 sur 20 reste non négligeable pour un praticien qui doit en tenir compte dans son pronostic.

Les séquelles persistantes seraient donc très rares pour les chiens survivant à l'intoxication. L'absence de séquelles à long terme semble ainsi la règle pour ces cas d'intoxication.

En termes de bilan il semblerait donc que dans un délai de 48 h post intoxication la majorité des signes cliniques graves, dont notamment les convulsions et les trémulations musculaires intenses, rétrocedent en présence d'un traitement symptomatique efficace, mis en place précocement. Passé ce délai le pronostic vital de l'animal est très bon et l'absence de séquelles très fréquente. Néanmoins le taux de létalité de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes n'est pas à négliger pour les vétérinaires qui doivent en tenir compte dans leur pronostic, lorsque celui-ci est abordé avec le propriétaire de l'animal.

3) Traitement

1. Un traitement en absence d'antidote

Aucun antidote visant à lutter contre les mycotoxines trémorigènes n'existe à ce jour chez le chien, ou pour d'autres espèces animales. Le traitement curatif recommandé suite à l'ingestion de compost, d'aliments ou de noix moisies par un chien est composé de deux parties :

-Une décontamination : consistant à inhiber ou limiter l'absorption du toxique, ainsi qu'à favoriser son élimination et excrétion.

-Des mesures de support et de soutien de l'animal : permettant le maintien des grandes fonctions de l'organisme en luttant contre les symptômes engendrés par le toxique.

2. Traitement éliminatoire

La contamination des chiens par les mycotoxines trémorigènes se fait par voie orale, l'essentiel de la décontamination sera donc digestive. D'autant plus que comme évoqué l'excrétion de ces mycotoxines est très majoritairement biliaire.

a) Induction de vomissements

L'espèce canine est physiologiquement capable de vomir, ainsi suite à l'ingestion d'aliments moisissus ou de compost des vomissements spontanés peuvent avoir lieu. Dans les cas où cette décontamination digestive ne se produit pas naturellement, et en absence de contre-indications liées à l'état général de l'animal, il est fortement recommandé de provoquer ces vomissements. En effet ceux-ci peuvent permettre de limiter fortement l'absorption des mycotoxines dans l'organisme par diminution de la quantité d'aliments contaminés dans l'estomac.

La contre-indication majeure à l'induction des vomissements est liée au risque de fausse déglutition. Celui-ci est grandement accru si des troubles neuro-musculaires importants sont présents chez le chien, dont notamment des convulsions ou des tremblements musculaires généralisés et intenses. De même l'altération de l'état de vigilance de l'animal dans les cas de comas, de fort abattement ou de grave dyspnée ne permet souvent pas de certifier de la capacité du chien à déglutir, ce qui augmente aussi fortement le risque de bronchopneumonie par aspiration, liée à une fausse déglutition. Ainsi en l'absence de ces signes cliniques, il est possible de décontaminer l'animal par l'utilisation de vomitifs, celle-ci doit être réalisée le plus tôt possible après ingestion des toxiques pour limiter le risque d'apparition de troubles nerveux. Le temps écoulé depuis la contamination orale ne constitue pas pour autant, à lui seul, une contre-indication à l'usage de vomitifs.

La manière la plus simple de provoquer des vomissements chez un chien consiste en l'utilisation d'apomorphine. En France, 3 médicaments contenant cette molécule disposent d'une AMM pour l'espèce canine afin d'induire des vomissements : EMEDOG 1 mg/mL SOLUTION INJECTABLE POUR CHIENS®, APOVOMIN 0,85 mg/mL SOLUTION INJECTABLE POUR CHIENS®, APOVOMIN SOLUTION INJECTABLE POUR CHIENS®. L'administration consiste en une injection unique par voie sous cutanée à la posologie de 0,1 mg d'apomorphine par kg de poids corporel pour les 3 produits. Selon la spécialité utilisée, les efforts expulsifs digestifs, accompagnés ou non de vomissements, se produisent entre 2 et 15 minutes après l'injection et peuvent perdurer pendant une durée d'au maximum 2h30. Cette injection ne doit pas être répétée en cas d'échec d'induction des vomissements, en raison du risque de dépression centrale en cas de surdosage ("RCP Emedog," 2022).

En l'absence de disponibilité de ce vomitif de choix, l'eau oxygénée peut être une bonne alternative avec une efficacité de 75 %. Le protocole consiste à prendre de l'eau oxygénée à 10 volumes (3 %) et à la diluer de moitié dans de l'eau, puis d'administrer par voie orale 1mL par kg de poids corporel de cette solution à l'animal, avec une dose maximale de 50mL par chien. Le délai d'apparition des efforts expulsifs est alors de 2 à 10 minutes, et en cas d'échec le procédé est renouvelable 1 fois seulement (Berny and Queffélec, 2014). Il est conseillé de donner un pansement digestif dans les 3 jours suivants ce procédé, en raison de l'irritation digestive générée.

L'utilisation de chlorure de sodium comme vomitif est théoriquement possible mais fortement contre indiquée en raison du grand risque d'intoxication au sel de l'animal et de la facilité d'accès aux deux autres vomitifs présentés de nos jours (Berny and Queffélec, 2014).

L'induction de vomissements est donc souvent contre indiquée lors d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes en raison de la fréquence élevée des troubles nerveux sévères et d'altérations importantes de l'état général. Cependant en l'absence de ces signes, cette décontamination de la partie antérieure du tube digestif est fondamentale car elle peut fortement limiter la gravité de l'intoxication.

b) Lavage gastrique

Dans le cas d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes les indications d'un lavage gastrique sont : la présence de troubles nerveux ou de la vigilance rendant l'usage des substances émétiques trop risqué ou l'échec de provocation des vomissements. Les modalités de la réalisation pratique de cet acte consistent en (Berny and Queffélec, 2014; Schildt and Jutkowitz, 2009) :

- une sédation et une anesthésie générale avec pose d'une voie veineuse et une intubation endotrachéale avec gonflement du ballonnet pour protéger les voies respiratoires ;
- la mise de l'animal en décubitus latéral et son inclinaison afin de mettre la tête en position déclive ;
- une intubation oro-gastrique avec une sonde de longueur suffisante (repère : la sonde doit faire la distance gueule-dernière côte), et de largeur suffisante pour faire passer d'éventuels éléments solides ;
- l'administration orale d'un soluté isotonique salé tiède (pour ne pas faire chuter la température corporelle), à une dose de 5 à 10 mL par kg de poids corporel, puis une récupération par aspiration du contenu de l'estomac. Cette procédure est à renouveler jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide, dans certains cas 20 à 40 couples de lavage – ré aspiration sont nécessaires ;
- l'administration de charbon végétal activé dans la sonde avant de la retirer ;

Cette intervention reste risquée, d'autant plus qu'elle n'a pas démontrée d'apports bénéfiques en médecine humaine. En effet les risques liés à sa réalisation sont nombreux : risque anesthésique, perforation de l'œsophage ou de l'estomac, hypoxie, arythmie... Mais le plus grand danger est de très loin la fausse déglutition pouvant entraîner une grave bronchopneumonie par aspiration, potentiellement fatale. Tous les cas de troubles pulmonaires infectieux, rapportés lors d'une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes dans la littérature, ont eu lieu suite à une fausse déglutition consécutive à un lavage gastrique (Boysen et al., 2002; Lowes et al., 1992; Walter, 2002; Young et al., 2003). Si des convulsions ou des tremblements trop importants sont encore présents chez l'animal malgré l'effet des sédatifs et anesthésiques, le lavage gastrique est contre indiqué en raison du trop grand risque de perméabilité des voies respiratoires.

En conclusion le bénéfice d'un lavage gastrique dans le cas d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes est donc très faible par rapport aux risques impliqués par sa réalisation.

c) Adsorbants

Les adsorbants permettent de limiter fortement l'absorption intestinale de certaines substances et de contrecarrer des cycles entéro-hépatiques en favorisant l'excrétion digestive des toxiques. Le meilleur adsorbant utilisable en médecine vétérinaire est le charbon végétal activé. Lors de sa première administration, la posologie initiale recommandée est de 1 à 5 g par kg de poids corporel (Peterson and Talcott, 2013), puis l'administration peut être renouvelée à la dose de 1 à 2 g par kg jusqu'à 6 fois par jour (Berny and Queffélec, 2014). Bien que l'absorption du pénitrème A soit à priori rapide et que l'efficacité du charbon végétal activé dans la diminution de la résorption des mycotoxines trémorigènes n'ait pas été démontrée, de même que l'existence d'un cycle entéro-hépatique pour ces toxiques, l'excrétion très essentiellement biliaire et fécale de celles-ci justifie à elle seule l'utilisation de cet adsorbant. Sa durée d'administration peut avoir un intérêt jusqu'à 2 à 3 jours après intoxication

(Barker et al., 2013). L'intérêt du charbon végétal activé dans la prise en charge thérapeutique d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes fait l'objet d'un consensus dans la littérature vétérinaire.

Les contre-indications des adsorbants sont liées à leur administration par voie orale, ainsi tout trouble neurologique ou altération de l'état de vigilance majeur augmentant le risque de fausse déglutition rend impossible l'usage des médicaments donnés per os. Dans le cas d'un chien ne présentant pas de tels troubles et ayant ou non déjà vomé, l'injection préalable d'une substance anti émétique telle que le citrate de maropitant (à la posologie d'1 mg/kg en IV ou SC) ou de chlorhydrate de métoclopramide (à la posologie de 2,5 à 5 mg/kg en IV, IM ou SC) peut être un gage de sécurité avant l'usage d'adsorbants, en cas d'apparition postérieure de signes nerveux.

d) Laxatifs

L'utilisation de laxatifs tels que l'huile paraffine à la posologie de 1mL/kg peut elle aussi favoriser l'élimination intestinale du toxique, de plus elle pourrait théoriquement limiter les signes de constipation liés à l'absorption de corps étrangers tels que les coquilles de noix.

En Amérique du Nord l'usage de laxatifs osmotiques tels que le sorbitol ou sulfate de magnésium est préférée à l'emploi d'huiles minérales telles que la paraffine en raison de leur plus haut risque de fausse déglutition. Une solution composée à 70 % de sorbitol doit être administrée per os à la posologie de 1 à 3mL/kg, préférentiellement dans les 60 minutes suivant l'ingestion du toxique, et peut être utilisée simultanément avec du charbon végétal activé. La spécificité de ces substances osmotiques est liée à l'appel d'eau créé dans le tube digestif. Le volume des intestins est alors augmenté ce qui augmente le péristaltisme et donc la vitesse du transit digestif, qui limite l'absorption du toxique. Les risques de déshydratation et d'hypernatrémie liés à ces pertes d'eau pour l'organisme ne sont pas négligeables, l'usage de ce type de laxatifs est donc réservé à des animaux mis sous perfusions ou en mesure de s'abreuver (Peterson and Talcott, 2013).

Les contre-indications des laxatifs sont identiques à celles de l'usage d'adsorbants et liées à l'usage de la voie orale.

e) Gastrotomie

La gastrotomie est un traitement chirurgical très rarement utilisé dans le cas d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. En effet avant sa réalisation il est nécessaire de traiter les signes neuromusculaires présents chez l'animal ce qui suffit souvent au rétablissement du chien. De plus c'est un acte beaucoup plus invasif et risqué par rapport à l'utilisation de vomitifs ou d'adsorbants. La seule indication de cet acte fait suite à l'ingestion de nombreuses noix moisies sans présence de signes nerveux couplée à une induction des vomissements inefficace. Dans ce cas la gastrotomie peut se justifier car elle s'avère souvent plus simple que la réalisation d'un lavage gastrique.

f) Émulsions lipidiques intraveineuses (ELI)

Cette méthode de décontamination serait actuellement la seule qui ne concerne pas l'appareil digestif. Elle consiste en un accès direct au milieu intravasculaire. L'injection intraveineuse d'émulsions lipidiques permet en effet de créer une phase lipidique dans le système circulatoire. Cette phase ainsi formée entraîne la migration des toxiques lipophiles depuis les tissus vers le secteur intravasculaire. Ce transfert permet l'élimination plus rapide du toxique de l'organisme car il augmente très fortement son excrétion urinaire, et diminue grandement sa concentration tissulaire et donc son effet toxique sur l'organisme (Kormpou et al., 2018). Ces émulsions se présentent sous la forme de poches de perfusion composées généralement de 10 ou 20 % d'huile de soja, et sont indiquées pour les toxiques très lipophiles.

La lipophilie d'une molécule peut être estimée grâce à la valeur de son coefficient de partage octanol/eau (P). Plus le logP d'une substance est élevé et plus celle-ci est hydrophobe ou lipophile. Le Tableau XI suivant présente les valeurs des logP de différentes molécules employées en médecine vétérinaire :

Tableau XI : logP de différentes molécules utilisées en médecine vétérinaire (issu de Parratt, 2015)

Toxique	LogP
Ivermectine	12,06
Moxidectine	8,4
Perméthrine	6,5
Roquefortine	5,09
Pénitrème A	4,32
Bupivicaïne	3,31
Propranolol	2,90
Diltiazem	2,73
Metaldéhyde	1,36
Phénobarbital	1,14

Comme le montre le tableau précédent le pénitrème A et la roquefortine C ont des logP très élevés, proches de voire même supérieurs à ceux de certaines molécules pour lesquelles l'usage d'émulsions lipidiques intraveineuses (ELI) est recommandé dans des cas d'intoxication (perméthrine) (Parratt, 2015). De plus une étude rétrospective menée sur 53 chiens fortement suspectés d'avoir été intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes a montré que l'administration d'ELI, en plus du traitement symptomatique des troubles nerveux et digestifs, permettait d'obtenir un temps médian d'amélioration ou de disparition des signes cliniques de 4 h, soit un délai bien inférieur au délai de 48 h déterminé précédemment. Enfin, aucun effet secondaire et aucune interaction avec un des anesthésiques (médétomidine, morphiniques, propofol), anti-convulsivants ou myorelaxants (diazépam, midazolam, méthocarbamol, phénobarbital), antiémétiques (citrate de maropitant) ou émétiques (apomorphine) n'ont été observés suite à l'administration de ces émulsions lipidiques, et 1 seul animal n'a pas survécu à son intoxication (Kormpou et al., 2018). Cette étude a suggéré que le temps de récupération des chiens intoxiqués aux mycotoxines était très nettement inférieur en cas d'usage d'ELI, et a souligné la possibilité d'obtenir un taux de létalité bien plus faible pour cette intoxication grâce à cette mesure de décontamination. Néanmoins la présence conjointe de nombreux autres traitements n'était pas négligeable dans les résultats de cette étude, de même que le délai d'administration entre les différents médicaments utilisés. Un autre grand avantage de cette méthode de décontamination non digestive, réside dans sa possibilité d'administration aux animaux incapables de déglutir, dans un état de très grand abattement ou de coma.

La méthode d'administration des ELI, constituées à 20 % d'huile, chez le chien consiste en: un bolus intraveineux de 1,5 à 4 mL/kg en 1 minute, puis à la mise en place d'une perfusion continue à un débit constant (CRI) de 0,25 mL/kg/min pendant 30 à 60 minutes, celle-ci pouvant être répétée (Berny and Queffelec, 2014). Aucune dose journalière maximum n'a été déterminée en médecine vétérinaire (Kormpou et al., 2018).

L'usage d'ELI dans le cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes serait donc très bénéfique, néanmoins le prix de ces poches à perfusion est élevé : de 15 à 50 € l'unité et une fois ouverte elles ne se conservent que 24 h au réfrigérateur. De plus les vétérinaires doivent se les procurer auprès des laboratoires fabricants. Cela a pour conséquence que beaucoup de cabinets ou cliniques vétérinaires de taille restreinte ne disposent pas de stocks permanents de ces perfusions. Néanmoins la tendance actuelle des structures vétérinaires grandissantes diminue peu à peu ce problème, d'autant plus que de nos jours de nombreux centres hospitaliers vétérinaires dotés de services d'urgences très bien équipés voient le jour en France.

Quelques effets indésirables sont rapportés dans la littérature suite à l'usage d'ELI : œdème localisé et douloureux lors d'injection péri veineuse, hyperlipidémie et sepsis. Il est fondamental de respecter de très bonnes conditions d'asepsie lors de telles perfusions, en particulier il ne faut pas conserver une poche ouverte depuis plus d'une journée. Enfin en médecine humaine d'autres complications ont été recensées : hépato ou splénomégalie, hémolyse, coagulopathie, jaunisse, thrombocytopénie, embolie graisseuse, hypersensibilité et réactions allergiques (Kormpou et al., 2018).

3. Traitement symptomatique

Parallèlement aux mesures de décontamination, la seconde partie de la prise en charge thérapeutique d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes consiste en des traitements visant à lutter contre les symptômes apparaissant au cours de l'intoxication. L'essentiel de ce traitement de soutien de l'animal passe par la gestion des troubles neuro-musculaires en raison de leur gravité, de leur fréquence et des nombreuses conséquences qu'ils peuvent engendrer.

a) Traitement des troubles neurologiques

Bien qu'absentes dans une importante partie des cas d'intoxication, les convulsions constituent le symptôme le plus important à traiter (Barker et al., 2013). Ainsi des crises convulsives persistantes peuvent entraîner un grand nombre de complications : hyperthermie, rhabdomyolyse, déshydratation, hypoglycémie (Kormpou et al., 2018), œdème cérébral, blessures (Berny and Queffelec, 2014). Celles-ci pouvant tout à fait, dans certaines mesures, entraîner le décès de l'animal intoxiqué.

Le traitement de ces troubles neurologiques passe par l'utilisation d'anti-convulsivants. Le Tableau XII ci-dessous présente les principes actifs utilisables chez les chiens victimes de convulsions lors d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Barker et al., 2013; Berny and Queffelec, 2014; Peterson and Talcott, 2013; Waratuke, 2017) :

Tableau XII : Anti-convulsivants utilisables chez le chien (Barker et al., 2013; Berny and Queffélec, 2014; Peterson and Talcott, 2013; Waratuke, 2017)

Molécule	Posologie		Remarque
	Bolus	Perfusion continue en IV (CRI)	
Diazépam	0,5 à 2 mg/kg IV ou IR	0,5 mg/kg/h	Renouvelable au bout de 15 minutes si inefficace
Midazolam	0,07 à 0,2 mg/kg IV ou IM	0,05 à 0,5 mg/kg/h	Surtout utilisé en CRI
Lévétiracétam	30 à 60 mg/kg en IV	/	Coût élevé, peu de données en médecine vétérinaire
Phénobarbital	2 à 6 mg/kg IV	2 à 4 mg/kg/h	Délai d'action : 20 à 30 minutes
Pentobarbital	2 à 15 mg/kg IV toutes les 6 à 8 h	1,5 à 5 mg/kg/h	Bolus moyen : 4 mg/kg
Médétomidine	10 à 80 µg/kg IV	/	Utilisable seule ou associée à la kétamine
Kétamine	5 mg/kg IV	5 mg/kg/h	À utiliser uniquement en association, avec la médétomidine ou le diazépam*
Propofol	1 à 6 mg/kg IV lente	6 à 36 mg/kg/h	Bon effet myorelaxant

*Malgré ses propriétés pro convulsivantes, la kétamine a déjà démontré son efficacité sur des convulsions réfractaires (Berny and Queffélec, 2014)

D'autres principes actifs sont encore capables d'atténuer des convulsions mais sont plus rarement utilisés : l'isoflurane par voie respiratoire, le thiopental dont la commercialisation a été cessée, et l'acépromazine qui a surtout révélé son efficacité à haute dose sur des intoxications au métraldéhyde (Berny and Queffélec, 2014).

Les benzodiazépines et en particulier le diazépam, sont très souvent le premier traitement administré aux chiens intoxiqués victimes de troubles nerveux. En effet en raison de l'usage fréquent de cette molécule par de nombreux praticiens lors de protocoles anesthésiques, de son coût très abordable, de sa large marge de sécurité permettant une répétition d'injections, et de son utilité pour la lutte contre de nombreux toxiques aux propriétés convulsivantes, celle-ci est quasiment systématiquement administrée en première intention, sous forme de bolus intra-veineux si la pose d'un cathéter est possible, ou par voie rectale dans le cas contraire. Néanmoins dans le cas spécifique de l'intoxication au pénitrem A ou à la roquefortine C, de très nombreux auteurs soulignent que l'efficacité des benzodiazépines et notamment celle du diazépam dans la diminution ou l'arrêt des convulsions, est très variable (Berny and Queffélec, 2014; Boysen et al., 2002; Parratt, 2015; Peterson and Talcott, 2013).

Si l'intensité des convulsions est réduite par le diazépam, l'administration répétée de bolus peut être effectuée à la même posologie jusqu'à 3 fois avec 10 minutes d'intervalle entre chaque administration ; la mise en place d'une CRI de midazolam ou de diazépam peut alors aussi être une bonne alternative, car la durée d'action du diazépam n'est que de quelques dizaines de minutes. Bien que de nombreuses convulsions soient réfractaires aux benzodiazépines, dans une grande partie des

intoxications aux mycotoxines trémorigènes l'usage des benzodiazépines comme seul agent anti-convulsivant est souvent suffisant pour permettre le rétablissement de l'animal.

Si les conclusions ne rétrocedent pas malgré l'administration de plusieurs bolus de diazépam le recours à d'autres molécules anti-convulsivantes est nécessaire. Les barbituriques (phénobarbital, pentobarbital) sont alors généralement recommandés, ils peuvent être administrés en bolus intraveineux et poursuivis en CRI s'ils s'avèrent efficaces. Les alternatives en seconde intention sont : l'utilisation de propofol sous la forme de bolus intraveineux suivi ou non d'une perfusion continue, ou l'administration de médétomidine aux propriétés sédatives et myorelaxantes associée ou non à la kétamine pour son effet dissociatif (Berny and Queffélec, 2014; Boysen et al., 2002; Parratt, 2015; Peterson and Talcott, 2013). Dans le cas des intoxications graves aux mycotoxines avec présence d'importantes convulsions, celles-ci sont très fréquemment réfractaires aux benzodiazépines, le recours aux molécules citées précédemment est donc justifiable dès la prise en charge thérapeutique initiale des animaux.

Le point commun de ces anesthésiques et barbituriques est leur propriété de dépresseur cardio-respiratoire, ce qui renforce l'intérêt du monitoring des animaux hospitalisés. Les barbituriques sont souvent très efficaces en cas de convulsions réfractaires aux benzodiazépines car bien qu'ils soient également des effecteurs allostériques du récepteur GABA_A favorisant l'action du neurotransmetteur GABA, leur site de fixation est moins spécifique. Ceci a pour conséquence qu'ils présentent un effet anti-convulsivant beaucoup plus large que les benzodiazépines, mais en contrepartie ils sont dotés d'une marge thérapeutique plus restreinte (Source : https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/barbiturates_fr). Les anesthésiques présentent eux de meilleures propriétés myorelaxantes que les barbituriques.

Toutes les molécules anti-convulsivantes citées précédemment, influent également sur les trémulations musculaires présentes dans près de 100 % des intoxications. Bien que moins menaçants pour la vie de l'animal que des convulsions, les tremblements généralisés et raideurs musculaires doivent également être traités. Les benzodiazépines, les α 2-agonistes, le propofol et les barbituriques possèdent tous une activité myorelaxante, celle-ci est cependant faible pour les barbituriques.

Lorsque les convulsions sont absentes ou ont été inhibées, et que les trémulations musculaires ou une position d'opisthotonos sont les seuls symptômes nerveux présents, l'utilisation de méthocarbamol est recommandée dans la littérature. Cette molécule est le myorelaxant de choix dans ce type d'intoxication, sa posologie est de 55 à 220 mg/kg IV, la moitié de cette dose devant être donnée initialement à une vitesse inférieure ou égale à 2mL/min et répétée jusqu'à apparition d'un effet myorelaxant. La limite maximale d'administration journalière étant de 330 mg/kg/jour (Barker et al., 2013; Waratuke, 2017). Cette molécule est très utilisée en Amérique du Nord, où elle est même recommandée en première intention dans les cas d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Waratuke, 2017). Néanmoins, en France, ce principe actif est très peu voire pas du tout utilisé en médecine vétérinaire, aucun médicament contenant ce principe actif ne dispose d'ailleurs d'une AMM pour l'espèce canine.

En résumé le traitement des troubles neuro-musculaires peut faire appel à différentes molécules. Si les benzodiazépines, et en particulier le diazépam utilisé en bolus intraveineux, suffisent à inhiber ces signes dans certains cas, lors d'absence d'efficacité de cette famille de molécule le recours à d'autres anti-convulsivants tels que les barbituriques, le propofol, la médétominide ou la kétamine est nécessaire. La disparition des signes neuro musculaires dans un délai de 48 h est un bon indicateur pronostic de l'absence de séquelles pour l'animal.

b) Traitement des troubles digestifs

Les seuls troubles digestifs fréquents dans les cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes sont les vomissements. Le traitement de ceux-ci passe par l'administration injectable de citrate de maropitant ou de chlorhydrate de métoproclamide. Comme déjà mentionné des vomissements spontanés peuvent limiter la quantité de toxique absorbée, il ne faut donc pas les inhiber, voire même les provoquer. Néanmoins étant donné la probabilité très élevée d'occurrence de troubles nerveux et le risque de fausse déglutition y étant associé, leur utilisation se justifie également dans certains cas. Ainsi si des vomissements spontanés ont déjà eu lieu ou lorsque des symptômes neuro-musculaires sont présents chez l'animal, l'usage d'anti émétiques est très fortement recommandé.

L'ingestion de coquilles de noix peut entraîner des irritations digestives à l'origine de douleurs abdominales et de gastrites, voire même d'occlusions dans de très rares cas. Les douleurs digestives peuvent être traitées à l'aide de pansements digestifs tels que le phosphate d'aluminium, le sucralfate, ou d'anti acides comme l'oméprazole, la cimétidine ou la ranitidine. Le recours à des examens radiographiques et échographiques afin d'évaluer la quantité d'aliments ingérée et vérifier l'intégrité du tube digestif, du transit et l'absence d'occlusion est tout à fait justifié dans le cadre de ce type d'intoxication (Waratuke, 2017).

Les possibles diarrhées faisant suite à l'ingestion d'aliments moisissus peuvent être traitées comme dans tous les cas d'indiscretion alimentaire, avec un traitement à base d'anti diarrhéique (Smectite, Kaolin...).

c) Traitement des troubles cardio respiratoires, et de l'hyperthermie

Le monitoring cardio respiratoire et celui de la température sont très fortement recommandés pour les cas d'intoxication graves. La gestion des troubles neuro-musculaires est la mesure primordiale dans la correction de l'hyperthermie et des troubles respiratoires mineurs tels que des polypnées ou des tachypnées. En effet les convulsions et les tremblements sont la principale cause de l'augmentation de la température corporelle lors de cette intoxication. Cependant en cas de persistance d'une hyperthermie, d'autres mesures de refroidissement peuvent être mises en place : pour une hyperthermie modérée il est recommandé de recouvrir l'animal de serviettes humides, de le placer devant un ventilateur, de mettre de l'alcool sur ses coussinets et de le réhydrater par voie intraveineuse. Pour les cas graves (température > 41°C) le rinçage du chien et l'utilisation de pack de glace est possible (Barker et al., 2013; Waratuke, 2017). Il faut cependant rester vigilant et bien surveiller l'évolution de la température lors de ces mesures de refroidissement pour éviter une hypothermie rebond (Barker et al., 2013; Boysen et al., 2002) et cesser toute mesure de refroidissement quand celle-ci repasse sous le seuil de 38,9°C (Waratuke, 2017).

Les chiens intoxiqués développant une importante détresse respiratoire sont rares, cependant mieux vaut toujours prévoir cette possibilité et préparer le matériel nécessaire à une intubation trachéale d'urgence et à une mise sous oxygène ou ventilation assistée. La mise sous ventilation artificielle a, en effet, déjà été nécessaire à plusieurs reprises dans des cas démontrés d'intoxications (Boysen et al., 2002). En cas de troubles respiratoires postérieurs à la rémission des troubles neuro-musculaires, le recours à un examen radiographique des poumons est nécessaire, pour juger de la présence ou l'absence d'une bronchopneumonie par aspiration. En cas de résultats en faveur de cette pathologie, une antibiothérapie est nécessaire pour l'animal.

d) Intérêt de la fluidothérapie

La fluidothérapie ne présente théoriquement aucun intérêt dans l'élimination des mycotoxines trémorigènes car l'excrétion urinaire de ces dernières est très faible. Néanmoins la mise des animaux sous perfusion est fondamentale dans le traitement de cette intoxication. Celle-ci permet effectivement de préserver l'état d'hydratation des animaux intoxiqués souvent en incapacité de boire, et sert également à maintenir une voie veineuse pour l'administration de médicaments en urgence.

La persistance d'un volume sanguin suffisant limite également les possibles dommages rénaux causés par une probable myoglobinurie consécutive à une rhabdomyolyse, elle-même engendrée par les convulsions ou tremblements (Barker et al., 2013). De même dans le cas d'une hypoglycémie causée par un excès de consommation de glucose lors de troubles neuro-musculaires, et en l'absence de possibilité de réalimentation orale, l'administration intraveineuse de solution glucosée peut être très bénéfique pour l'animal. De plus la fluidothérapie peut permettre un apport d'électrolytes aux chiens intoxiqués et de restaurer leurs constantes ioniques et acidobasiques, potentiellement perturbées par des pertes liées aux vomissements.

Enfin lors d'hyperthermie (ou d'hypothermie) l'administration de fluides à une température légèrement inférieure (ou supérieure) peut être une manœuvre thérapeutique intéressante.

4. *Vers de nouveaux agents thérapeutiques ?*

Une récente étude menée *in vitro* et *in vivo* chez des nématodes et des rats a démontré la capacité de l'astaxanthine, un pigment xanthophylle marin, et de l'acide docosahexaénoïque, un acide gras oméga 3 essentiel dans le développement cellulaire et nerveux, à inhiber l'effet cytotoxique du pénitrème A et à normaliser la majorité des paramètres biochimiques des animaux intoxiqués par cette mycotoxine. Cette publication a suggéré que ces 2 substances pourraient être des additifs alimentaires intéressants dans la prévention de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Goda et al., 2016). Néanmoins étant donné la rareté d'occurrence de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans l'espèce canine, la mise en place de mesures de préventions permanentes n'est absolument pas nécessaire. Cependant de futures recherches sur les mécanismes d'action cellulaires de ces molécules pourraient peut-être permettre de trouver de nouveaux principes actifs, utilisables dans le traitement de chiens victimes des effets toxiques des mycotoxines trémorigènes.

B) l'intoxication expérimentale aux mycotoxines trémorigènes

1) Chez le chien

Une seule étude décrivant des intoxications expérimentales de chiens au pénitrème A existe à ce jour dans la littérature. Celle-ci a été menée en 1976 par Wallace HAYES et ses coauteurs. Nous détaillons dans cette partie son procédé et ses conclusions. En revanche aucune publication ne fait mention d'une exposition expérimentale de chiens à la roquefortine C.

1. Description et objectifs de l'étude

16 chiens de races variées, composés de mâles et de femelles, d'âge moyen 2,6 ans et de poids moyen 8,9 kg ont été suivis lors de cette étude. L'objectif recherché par les auteurs était d'étudier les conséquences cliniques, fonctionnelles et lésionnelles suivant l'injection intrapéritonéale de pénitrem A. Pour cela des prises de sang ont été effectuées avant et après l'intoxication des chiens afin de pouvoir comparer les valeurs de leurs paramètres biochimiques et hématologiques ainsi que certaines de leurs activités enzymatiques. Enfin tous les animaux ont été autopsiés à postériori de l'intoxication, y compris ceux y ayant survécu qui ont été euthanasiés 10 jours après l'injection de pénitrem A.

2. Matériel et méthodes

La mycotoxine a été injectée par voie intrapéritonéale à 11 chiens, 2 animaux n'ont pas eu d'injection, et 3 n'ont reçu que du propylène glycol, solvant des solutions contenant le pénitrem A. La dose de toxine injectée à chaque animal variait de 0,125 mg/kg à 5 mg/kg, comme le présente le Tableau XIII:

Tableau XIII : Temps de survie en fonction de la dose de pénitrem A injectée par voie intrapéritonéale à des chiens expérimentalement intoxiqués (d'après Hayes et al., 1976)

Numéro des chiens	Dose de pénitrem injecté par voie intrapéritonéale	Temps de survie post exposition
1	5,0 mg/kg	40 h
2	3,0 mg/kg	24 h
3	2,5 mg/kg	3 jours
4	2,5 mg/kg	3,5 h
5	1,0 mg/kg	Remis à J10*
6	1,0 mg/kg	40 h
7	1,0 mg/kg	Remis à J10*
8	0,5 mg/kg	3,5 h
9	0,5 mg/kg	3,5 h
10	0,25 mg/kg	Remis à J10*
11	0,125 mg/kg	Remis à J10*
12, 13, 14	Injection de propylène glycol	Remis à J10*
15, 16	Pas d'injection	Remis à J10*

* : les chiens ayant survécu ont été euthanasiés 10 jours après l'injection, pour les besoins de l'étude

Le chien numéro 7 est le seul animal à avoir reçu un traitement post intoxication. Celui-ci était à base de pentobarbital injectable et a été administré une heure après intoxication.

3. Résultats et discussion

a) Délai d'apparition des symptômes

Toutes les injections de pénitrem A ont entraîné l'apparition de signes cliniques et aucun des 5 chiens non exposés au toxique n'a développé de symptômes. Les tremblements étaient les premiers signes cliniques à apparaître, ils sont apparus dans un délai de moins 30 minutes pour tous les dosages d'injection. Leur apparition la plus rapide a eu lieu au bout de 10 minutes pour une injection à la posologie intermédiaire de 1mg/kg.

L'apparition des symptômes suite à l'exposition au pénitrem A semble donc rapide, néanmoins la voie intrapéritonéale ne reflète pas la voie naturelle d'intoxication qui est la voie orale. Étant donné les étapes nécessaires d'absorption intestinale et de distribution dans l'organisme ce délai est forcément sous-évalué, par rapport à celui qui pourrait être observé dans un cas réel d'intoxication.

b) Symptômes

Les symptômes ont été décrits de manière succincte par les auteurs dans cette étude. Les premiers à apparaître ont été les tremblements qui ont ensuite évolué en convulsions cloniques ou tétaniformes dont la sévérité et la durée était corrélée positivement avec la dose de mycotoxines trémorigènes injectée. De la diarrhée et une hyperthermie importante de 40 à 42,2 °C ont également été rapportés.

L'évolution de l'état des animaux n'a été détaillée que pour le chien numéro 7, celui-ci étant le seul à avoir reçu un traitement post intoxication. Ce chien a été victime de tremblements 10 minutes après l'injection de pénitrem A, puis de convulsions cloniques, et au bout d'une heure sa température rectale était de 42,2°C. À ce moment une injection de pentobarbital lui a été administrée, suite à laquelle le chien a présenté des difficultés respiratoires, peut être liées à l'effet dépresseur respiratoire des barbituriques. Une heure après ce traitement le chien était dans un état de sédation légère et l'hyperthermie avait largement diminué avec une température de 39,4°C. Un jour après l'injection intrapéritonéale, le chien restait en décubitus latéral mais sa température était redescendue à 37,8°C. Trois jours après son exposition au toxique le chien arrivait à se tenir debout, ses selles étaient normales, mais il présentait toujours des petits tremblements persistants. Le rétablissement complet de l'animal a été observé au bout de 7 jours.

Les signes cliniques ici mentionnés, bien que peu décrits par les auteurs, sont similaires à ceux décrits dans les cas naturels d'intoxication rapportés dans la littérature. Il faut néanmoins souligner l'absence de mention de vomissement dans cette étude. Ainsi à moins que celle-ci ait été omise par les auteurs, il semblerait donc que soit l'effet émétique du pénitrem A est inexistant et dans ce cas ce serait peut-être la roquefortine C, quasiment toujours présente simultanément dans les aliments moisissés, qui serait responsable de cette propriété. Soit que le mécanisme d'induction des vomissements par le pénitrem A soit strictement lié à l'usage de la voie orale, par action mécanique ou biologique.

c) Modifications des activités enzymatiques

Les enzymes dont les activités ont été mesurées dans cette étude étaient : ASAT, CPK, LDH et les PAL.

La première prise de sang post injection a été réalisée au bout de 24 h et seuls les chiens intoxiqués à une dose de plus de 0,25 mg/kg et non traités de numéro 1, 3, 5, 6 et 10 étaient encore en vie. Ils présentaient tous une augmentation des ASAT, CPK, LDH et PAL. Seul l'animal 11 intoxiqué à la dose de 0,125 mg/kg montrait une unique augmentation d'activité enzymatique, celle-ci concernait les ASAT. Tous ces paramètres d'activités enzymatiques sont revenus dans les normes au bout de 3 jours pour les chiens 10 et 11, et de 7 jours pour le chien 5, les autres animaux étant morts à cette date.

Hayes et ses collaborateurs ont suspecté l'activité musculaire intense, présente lors des convulsions, comme responsable de l'augmentation d'activité des CPK. De plus les valeurs élevées des ASAT et des PAL seraient selon eux, respectivement liées à une atteinte du parenchyme hépatique et à une choléstase. Ces résultats sont en accord avec les conclusions de l'étude d'ERIKSEN et ses coauteurs mentionnant une augmentation de ces activités enzymatiques durant quelques jours après une intoxication naturelle aux mycotoxines trémorigènes (Eriksen et al., 2010).

d) Modifications de l'hémogramme

Les modifications de la numération et de la formule sanguine observées 24 h après intoxication étaient composées d'une augmentation de l'hémoglobémie et de l'hématocrite, ainsi que d'une leucocytose provoquée par une augmentation du nombre de neutrophiles, chez tous les chiens intoxiqués sauf le chien 11 chez qui l'hémogramme ne présentait pas d'anomalie. Les auteurs suspectaient la déshydratation des animaux en incapacité de s'abreuver comme cause de l'augmentation de l'hématocrite et de celle de la concentration sanguine en hémoglobine. Concernant la neutrophilie ces derniers suspectaient qu'elle soit liée à une réponse immunitaire non spécifique de la part de l'organisme, suite au contact avec les mycotoxines. Cette augmentation du nombre de globules blancs n'avait pas été retrouvée dans l'étude d'Eriksen exposant quelques hémogrammes de réels cas d'intoxication (Eriksen et al., 2010).

e) Biochimie

Les paramètres biochimiques sanguins ont été relevés avant l'intoxication pour chaque animal et comparées à celles relevées 24 h après celle-ci.

L'augmentation modérée (de 43 à 64 %) de la créatinine et de l'urée relevée, chez les chiens exposés, a été suspectée d'être liée à une insuffisance rénale, potentiellement pré rénale et pouvait être en lien avec la déshydratation des animaux. Selon les auteurs les valeurs élevées de cholestérol (de plus 30 % à 40%) pouvaient être dues à une augmentation de sa synthèse hépatique suite à l'action du pénitrem A, à la présence de lésions hépatiques ou à une choléstase. Enfin, la concentration sanguine en créatinine des chiens avait probablement augmenté en raison d'une activité musculaire exacerbée lors des troubles neuro-musculaires.

Ces observations ont montré que les modifications biochimiques observées sont très peu spécifiques, transitoires et peu intéressantes pour le diagnostic du clinicien. En revanche cet examen biochimique semble avoir plus d'intérêt au cours d'une hospitalisation, car il permet l'évaluation de la fonction rénale et hépatique des animaux en convalescence.

f) Lésions observées à l'autopsie

Lésions hépatiques : tous les chiens intoxiqués présentaient des lésions hépatiques à l'examen nécropsique, celles-ci semblaient proportionnelles à la dose de pénitrème A injectée. Chez les chiens exposés à des doses inférieures à 2,5 mg/kg seule une congestion hépatique surtout marquée autour des veines centro-lobulaires et des lésions de dégénérescence graisseuses (vacuoles dans les hépatocytes) ont été retrouvées. Chez les animaux intoxiqués à plus forte dose des lésions plus sévères du foie ont été mises en évidence avec des zones massives de nécrose et des hémorragies.

Les lésions de congestions étaient très sévères chez les chiens décédés en quelques heures après l'intoxication, ce qui pourrait être lié selon les auteurs à un état de choc ou de collapsus vasculaire, d'autant plus que d'autres organes tels que les poumons, les intestins, les reins, la rate, la vessie, le pancréas, le cœur et les nœuds lymphatiques ont aussi été touchés par ce phénomène de congestion.

Malgré la présence de nombreuses lésions de dégénérescence graisseuse, l'accumulation de lipides intra hépatique n'était pas très importante. Cela pourrait, selon Hayes, être directement relié à l'augmentation de la cholestérolémie des animaux, due à une stimulation de la synthèse hépatique de cholestérol et à son excrétion sanguine ou biliaire, elle-même causée par le pénitrème A.

Lésions rénales : la présence de lésions rénales n'a été rapportée que pour les chiens 8 à 11, intoxiqués à des doses relativement faibles de 0,125 à 0,5 mg/kg de pénitrème A. Les lésions observées se présentaient sous la forme d'engorgements de sang des vaisseaux de la capsule rénale et étaient donc très peu spécifiques. Les niveaux d'urémie et de créatininémie étaient normaux chez les chiens 10 et 11, ayant survécu assez longtemps pour une prise de sang post intoxication. Aucun effet du pénitrème A sur les reins n'a donc pu être démontré dans cet étude, la déshydratation des animaux pouvant tout à fait être responsable des lésions peu spécifiques observées.

Lésions digestives : des lésions intestinales ont été relevées chez de nombreux animaux autopsiés. Une congestion ou un œdème de la muqueuse intestinale recouverte de mucus, des pétéchies et des ecchymoses sur la séreuse de l'iléon terminal, du colon, du rectum et de caecum ont été observées. Ces lésions étaient à nouveau très peu spécifiques et n'ont pas permis de démontrer l'effet du pénitrème A sur le tube digestif des animaux intoxiqués

Lésions pulmonaires : des lésions de congestion, d'œdème et d'hémorragies pulmonaires ont été relevées chez les chiens intoxiqués à 1 mg/kg, ainsi que des atélectasies focales et des hémorragies intra alvéolaires pour les chiens 1 à 4 intoxiqués avec de plus fortes doses de toxique.

Enfin des hémorragies vésicales et des zones de nécroses situées dans la pulpe rouge de la rate ont également été retrouvées sur certains animaux.

En terme de bilan il apparaît que l'essentiel des lésions relevées lors de l'autopsie d'animaux intoxiqués au pénitrème A ont révélé la présence de nombreuses lésions congestives dans de nombreux organes, ainsi que de légères hémorragies. Cependant les troubles neuro-musculaires majeurs engendrés par la neurotoxicité du pénitrème A rendent très compliquée la détermination des lésions primitives

provoquées par l'action unique de cette toxine. En effet les crises convulsives ont d'importants effets sur l'ensemble de l'organisme et peuvent expliquer l'ensemble des lésions congestives et hémorragiques observées dans cette étude.

4. Discussion

Sur 9 chiens intoxiqués avec une dose supérieure ou égale à 0,5 mg/kg injectée par voie intrapéritonéale, 1 a reçu un traitement 1 h après intoxication, et 1 seul chien intoxiqué à la dose de 1,0 mg/kg a survécu en l'absence de traitement, les 7 autres animaux sont décédés dans un délai de 3,5 h à 3 jours. Les chiens 10 et 11 intoxiqués respectivement à la dose de 0,25 mg/kg et 0,125 mg/kg de pénitrem A se sont remis de l'intoxication. Le chien traité au pentobarbital a reçu son traitement précocement et les 2 chiens intoxiqués à la moitié de cette dose sont morts, il est donc probable que celui-ci serait décédé également en l'absence de l'usage de barbituriques. Parmi les animaux ayant survécu à l'intoxication, au bout du 10ème jour post intoxication aucun ne présentait de séquelles ni d'altération de l'état général.

Ces résultats suggèrent que l'absence de séquelles et le retour à l'état général initial des animaux survivant à cette intoxication, en présence ou en l'absence de traitements, semble être l'évolution la plus fréquemment observée. Ce qui est en accord avec les conclusions de notre étude bibliographique précédente. De plus une dose de pénitrem A inférieure ou égale à 0,25mg/kg injectée par voie intrapéritonéale, semble ne pas être létale pour l'espèce canine, bien qu'elle induise des troubles neuro-musculaires. Néanmoins cette observation n'a été réalisée que sur 2 animaux dans cette étude ce qui limite fortement son interprétation. Enfin une dose intrapéritonéale de 0,5 mg/kg de pénitrem A est suffisante pour induire la mort d'un chien y étant exposé, toute dose supérieure ou égale à ce seuil est donc potentiellement mortelle pour l'espèce canine.

L'intérêt majeur de cette étude est qu'elle démontre la toxicité du pénitrem A dans l'espèce canine. Elle permet également de préciser les symptômes, les modifications des activités enzymatiques et des paramètres biochimiques des animaux intoxiqués. Néanmoins la voie d'exposition au toxique utilisée lors de ces intoxications expérimentales ne permet pas la détermination de doses toxiques ou létales de pénitrem A pour le chien par voie orale.

2) Les doses létales et toxiques des mycotoxines trémorigènes chez le chien

1. Définitions

La dose létale médiane (DL_{50}) est une grandeur quantitative définie pour chaque substance toxique dans une espèce donnée, elle représente la quantité de la substance entraînant statistiquement la mort de la moitié des individus de l'espèce concernée si elle est administrée expérimentalement. Elle s'exprime généralement en mg de substance par kg de poids corporel pour l'animal. C'est une grandeur dépendante de la voie d'administration du toxique à l'animal.

La dose toxique minimale, également appelée dose minimale pour un effet nocif observable correspond, elle, à la dose la plus faible d'une substance donnée entraînant l'apparition d'un effet nocif sur un groupe exposé à celle-ci par rapport à un groupe non exposé. Elle est également définie pour une espèce donnée, pour une voie d'administration et s'exprime aussi en mg de substance par kg de poids corporel.

2. La roquefortine C

Aucune étude sur la toxicité de la roquefortine C n'a été menée dans l'espèce canine, seules 2 études contradictoires ont estimé des DL₅₀ par voie intrapéritonéale de la roquefortine C chez la souris. Ainsi comme déjà mentionné Frayssinet et Frayssinet avaient déterminé une valeur de 15 à 20 mg/kg (cité par Tiwary et al., 2009), mais Arnold et ses coauteurs ont cependant trouvé une DL₅₀ de 169 à 184 mg/kg lors de leurs études, en utilisant de la roquefortine C purifiée pour leurs expérimentations contrairement à la première étude (Arnold et al., 1978).

Une administration orale de roquefortine C pendant 16 à 18 jours à la posologie de 0,13 et 0,62 mg/kg chez des ovins n'a déclenché l'apparition d'aucun trouble comportemental, hématologique, ou reproducteur et aucune lésion anormale n'a été relevée lors des autopsies (cité par Tiwary et al., 2009). Cependant étant donné les différences existant entre le tube digestif et le métabolisme des carnivores domestiques et celui des ruminants ces doses ne sont bien sûr pas extrapolables à l'espèce canine. De plus il est à noter que celles-ci sont largement inférieures au DL₅₀ déterminées expérimentalement.

Berny et Queffélec mentionnent une toxicité par voie orale de la roquefortine C pour l'espèce canine à partir d'une dose 0,5 mg/kg dans leur guide pratique de toxicologie vétérinaire, mais l'origine de cette donnée n'est pas mentionnée (Berny and Queffélec, 2014).

3. Le pénitrème A

Différentes études ont tenté de déterminer la DL₅₀ et la dose toxique minimale du pénitrème A chez d'autres espèces que le chien. L'injection intrapéritonéale d'une dose de 0,5mg/kg de pénitrème A chez un rat a été suffisante pour induire des tremblements dont l'intensité semblait proportionnelle à la quantité de toxine administrée, cependant les dommages cellulaires observés sur les cellules de Purkinje n'étaient observables qu'à partir d'une dose de 1 mg/kg (Cavanagh et al., 1998). D'autres auteurs ont présenté des résultats légèrement différents, ainsi selon les résultats de Breton et ses coauteurs une posologie de 0,5 mg/kg de pénitrème A injectée dans la cavité abdominale est bien suffisante pour induire des tremblements et une posologie à 1,5 mg/kg a entraîné la mort de 63 % des rongeurs intoxiqués (17/27). Cependant des signes de dégénérescence cellulaire des cellules de Purkinje ont été observés dès la dose de 0,5 mg/kg (Breton et al., 1998). SOBOTKA et ses collaborateurs ont eux déterminé expérimentalement la dose médiane de pénitrème A permettant l'induction de trémulations musculaires chez 1 souris sur 2 par voie intrapéritonéale, celle-ci était de 0,19mg/kg (Sobotka et al., 1978). De plus chez la souris une DL₅₀ de 10 mg/kg par voie orale et de 1,1 mg/kg par voie intrapéritonéale sont mentionnées par PUSCHNER (cité par Puschner, 2002). Enfin en 2012 la dose moyenne de pénitrème A effective par voie orale pour l'induction de trémulations musculaires, chez 50 % des souris intoxiquées, a été estimée à 2,74 mg/kg et la dose toxique orale minimale ayant eu un effet trémorigène a été de 0,5 mg/kg (Moldes-Anaya et al., 2012).

Des injections en intraveineuse de 24 µg/kg et 25µg/kg de pénitrème A ont entraîné l'apparition de tremblements sévères et généralisés chez respectivement un porc et 2 moutons en moins de 10 minutes, et une administration orale de 100 mg/kg de cette même toxine à 2 cochons a entraîné des tremblements de la tête et de l'encolure uniquement au bout d'une heure (Peterson et al., 1982).

Concernant l'espèce canine dans le cas d'intoxication décrit par Hocking, les auteurs ont estimé la quantité de pénitrème A ingérée par le chien victime de graves trémulations musculaires à environ 175 µg/kg (Hocking et al., 1988). Cette approximation a été réalisée à partir d'une estimation de la quantité de cette mycotoxine dans le pain de hamburger moisi et du volume ingéré par l'animal. Cette estimation représente la seule valeur de dose toxique orale disponible dans la littérature pour l'espèce canine.

Les apports de l'étude de Hayes sont limités par le faible nombre d'animaux intoxiqués (11), néanmoins des tendances semblent apparaître au sein des résultats. Une injection intrapéritonéale de 0,5 mg/kg semble être mortelle en l'absence de traitement dans la grande majorité des cas, 1 seul chien sur les 8 concernés a survécu dans cette étude. Au contraire une dose de pénitrème A inférieure à ce seuil de 0,5 mg/kg et injectée par voie intrapéritonéale semble être de meilleur pronostic, bien qu'elle ait induit des troubles neuro-musculaires aucun des 2 animaux concernés n'est décédé (Hayes et al., 1976).

En termes de bilan il apparaît évident que l'absence d'études d'intoxications canines expérimentales aux mycotoxines trémorigènes par voie orale rend très complexe la détermination d'une dose toxique minimale ou d'une DL₅₀ pour ces molécules chez le chien. L'absence de connaissance de la biodisponibilité du pénitrème A et de la roquefortine C rend impossible l'estimation d'une dose minimale ingérée induisant l'apparition de troubles nerveux ou susceptible de menacer la vie de l'animal. Celles-ci sont en revanche forcément supérieures aux doses toxiques par voie intrapéritonéales.

C) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien

1) Un diagnostic clinique, épidémiologique et anamnestique

1. Des signes cliniques peu spécifiques

Dans la très grande majorité des cas le tableau clinique de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes est composé de trémulations musculaires, associées ou non à la présence de convulsions et vomissements. Bien qu'impressionnants et rares pour un propriétaire, ces signes cliniques sont très peu spécifiques. Aucun symptôme pathognomonique de cette intoxication n'est à ce jour rapporté dans la littérature.

2 Diagnostic différentiel

a) Un diagnostic différentiel très vaste

Les troubles neurologiques sont quasiment toujours présents chez des chiens victimes d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, en l'absence d'anamnèse leurs causes peuvent être très nombreuses dans l'espèce canine, le Tableau XIV suivant expose les plus fréquentes :

Tableau XIV : Diagnostic différentiel des tremblements et des convulsions dans l'espèce canine (Adamczyk et al., 2016; Barker et al., 2013; Berny and Queffelec, 2014; Dugas, 2017; Peterson and Talcott, 2013)

Cause	Affections
Toxique	Alcools, amphétamines, bases xanthiques (caféines, théobromine, théophylline...), cannabis, cocaïne, crimidine, éthylène glycol, héroïne, inhibiteur de cholinestérase (carbamates, organophosphorés), lactones macrocycliques (ivermectine...), métaldéhyde, métaux lourds (aluminium, plomb), mycotoxines trémorigènes, nicotine, noix de macadamia, pyréthrinoides, strychnine
Anomalie congénitale	Hydrocéphalie, kyste cérébelleux ou quadrigeminal, lissencéphalie, shunt porto systémique
Métabolique	Encéphalose hépatique, hyperlipidémie, hyperosmolarité (diabète hyperosmolaire), hyperurémie, hypocalcémie, hypoglycémie, insuffisance hépatique, trouble électrolytique,
Néoplasie	Gliome, lymphome, méningiome localisé dans le système nerveux central
Vasculaire	Accident vasculaire cérébral
Inflammatoire	Encéphalite non infectieuse
Infectieuses	Virus : Aujeszky, maladie de Carré, rage Bactérie : encéphalo(méningo)myélite Parasites : néosporose, toxoplasmose
Idiopathiques	Épilepsie idiopathique, tremblements généralisés idiopathiques, tremblements de tête idiopathiques
Traumatique	Traumatisme crânien

b) Élément en faveur de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

En l'absence d'anamnèse de la part du propriétaire, certains éléments cliniques permettent tout de même d'orienter le diagnostic du vétérinaire. En effet la présence concomitante de troubles neuromusculaires et de troubles digestifs (et en particulier de vomissements) est en faveur d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. L'examen visuel du contenu des vomissements peut être déterminant dans le diagnostic car la couleur verdâtre ou blanchâtre et l'odeur de moisi de ceux-ci peut évoquer ou renforcer la suspicion de consommation d'une denrée altérée. Cet élément diagnostique est encore plus révélateur lors de l'ingestion de noix moisies, ainsi si des morceaux de cerneaux, de coquilles ou de brous sont retrouvés dans le contenu digestif de l'animal, l'ingestion de noix est alors certaine. Étant donné que les noix non moisies ne sont dotées d'aucune toxicité nerveuse, la présence de mycotoxines trémorigènes dans les éléments ingérés est obligatoire.

Comme déjà mentionné les convulsions et tremblements généralisés engendrés par les mycotoxines trémorigènes sont réputés pour être souvent réfractaires à l'injection intraveineuse de bolus de diazépam, qui reste cependant très fréquemment la première action curative à visée anti-convulsivante réalisée dans les cliniques vétérinaires en France. Certains auteurs suggèrent qu'une absence ou une très légère diminution des crises convulsives suite à l'usage de diazépam chez le chien

doit constituer un fort élément de suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Lowe et al., 1992). Cependant d'autres toxiques sont connus pour générer des convulsions parfois réfractaires au diazépam (strychnine, certains carbamates...)

La réalisation d'examen complémentaires rapides par analyse sanguine et urinaire en clinique ne permet en aucun cas de confirmer une intoxication aux mycotoxines trémorigènes en revanche elle peut permettre d'exclure un grand nombre d'autres causes (Barker et al., 2013; Waratuke, 2017). Plus précisément la réalisation d'une numération formule permet d'exclure les causes inflammatoires et infectieuses en absence de leucocytose, bien qu'une leucocytose et une neutrophilie aient déjà été rapportées chez des chiens intoxiqués (Hayes et al., 1976). L'absence d'anomalie majeure sur l'ionogramme et la biochimie sanguine est signe de l'absence ou de la faible probabilité de cause métabolique des signes neurologiques. Il faut cependant tenir compte de l'effet de la déshydratation des animaux et des pertes électrolytiques liées aux vomissements dans l'interprétation des résultats de ces examens complémentaires.

La réalisation d'un examen neurologique de l'animal, sans détection d'autres troubles neurologiques excepté des tremblements généralisés, peut également selon certains auteurs orienter le clinicien vers la suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Barker et al., 2013), mais celui-ci peut parfois être complexe à réaliser en raison de l'altération de l'état de vigilance du chien.

Enfin le recours à l'examen échographique ou radiographique de la région abdominale peut, dans le cas d'une ingestion massive de noix moisies ou d'une autre denrée en grande quantité, attirer les cliniciens à suspecter un toxique d'origine alimentaire avec des répercussions nerveuses ce qui réduit considérablement le diagnostic différentiel.

En termes de bilan en absence d'anamnèse à l'exception de l'analyse du contenu des vomissements si celui-ci est accessible, aucun examen réalisable rapidement en clinique vétérinaire ne permet de confirmer une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Cependant l'évolution de l'état du patient suite au traitement symptomatique et la réalisation d'examen complémentaires peuvent permettre d'exclure un grand nombre d'autres causes des troubles neuro-musculaires et renforcer la suspicion d'intoxication de l'animal.

3. L'intérêt de l'anamnèse dans le diagnostic

De très nombreux auteurs s'accordent sur le fait que l'anamnèse est l'élément clé dans la suspicion d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Adamczyk et al., 2016; Barker et al., 2013; Waratuke, 2017).

Le rapport d'une possible consommation d'un aliment moisi ou d'un substrat inconnu lors d'une promenade, de la présence d'un noyer ou d'un tas de compost au domicile de l'animal, d'une période non surveillée de l'animal dans le jardin, d'une fugue de l'animal dans un lieu et dans des circonstances inconnues ou même encore la consommation du contenu de poubelles sont des éléments très suggestifs d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Barker et al., 2013). La présence d'un de ces scénarios dans le récit de l'anamnèse, couplé à la présence de symptômes nerveux pour lesquels l'animal est présenté au vétérinaire, doit immédiatement faire entrer ce toxique dans le diagnostic différentiel du clinicien. Une fois que les mycotoxines trémorigènes sont suspectées, le vétérinaire doit questionner le propriétaire pour préciser la nature et la quantité du substrat alimentaire potentiellement incriminé si celui-ci est connu, ou doit demander une description de la composition du jardin et des alentours du domicile dans le cas d'une période sans surveillance de l'animal. Cette

interrogation permet en général d'orienter le clinicien dans ses hypothèses diagnostiques et en particulier dans les différentes causes toxiques possibles.

L'atteinte aigüe, simultanée et identique de plusieurs animaux issus d'un même foyer, quartier, ou ayant récemment fréquenté la même zone géographique peut être un élément très fortement indicateur d'une origine toxique des troubles nerveux pour le vétérinaire. La détermination de la nature du toxique à dominante nerveuse, parmi la liste citée dans le Tableau XIV, doit alors être réalisée.

Le délai d'apparition des signes cliniques est aussi un élément fondamental de l'anamnèse. En effet la toxicité des mycotoxines trémorigènes ne se manifeste que de manière aigüe, et comme évoqué les signes cliniques se développent entre 30 minutes et quelques heures après l'intoxication. De ce fait l'existence d'un épisode de troubles nerveux préalable de plusieurs jours ou semaines avant la présentation clinique n'est pas en faveur d'une intoxication aigüe, à moins d'une exposition répétée à un même toxique.

4. Éléments de suspicion spatio-temporels

Les cas d'intoxication aux aliments moisiss destinés initialement à la consommation humaine, donnés volontairement ou non au chien peuvent subvenir à n'importe quelle période de l'année et concerner tout type de ménage.

En revanche comme déjà détaillé l'intoxication aux noix moisiss tombées au sol n'est possible qu'en période automnale ou hivernale et semble être beaucoup plus fréquente de Janvier à Avril (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). De même pour l'intoxication de chiens ayant consommé du compost, les cas recensés semblent être concentrés sur les 3 premiers mois des années civiles (Lheureux et al., 2018). Ceci s'explique très probablement par les conditions environnementales hivernales qui doivent être favorables à la synthèse (et/ou à la persistance) de pénitrem A ou de roquefortine C. En raison du nombre de facteurs biotiques et abiotiques influant sur cette biosynthèse, il est très complexe de pouvoir estimer plus précisément les jours ou les périodes très favorables à la présence de mycotoxines trémorigènes dans les noix présentes au sol, d'autant plus que la durée de persistance de ces toxines dans ce substrat est inconnue.

En pratique pour un clinicien, il semble donc impossible qu'une contamination naturelle d'un chien aux noix moisiss en France ait lieu durant la période estivale en raison de l'absence de ce toxique dans l'environnement. Cette conclusion semble également valable pour les cas d'intoxication au compost, bien que ceux-ci soient présents tout au long de l'année dans l'environnement des animaux. Cependant l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes par consommation d'aliments moisiss reste possible à toute saison.

2) Connaissance des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires

1. Un toxique peu fréquent et connu des praticiens vétérinaires

À ce jour aucune étude n'a tenté de déterminer la connaissance de l'existence des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité pour l'espèce canine auprès de vétérinaires praticiens. Néanmoins les études menées dans les 2 centres antipoison Français ont chacune mentionné la fréquente

méconnaissance de ce toxique par les praticiens (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Celle-ci n'a cependant jamais été chiffrée.

Cette absence de connaissance peut s'expliquer par différentes raisons. Tout d'abord la toxicologie est un domaine très vaste, complexe et spécifique. En effet bien que la gestion des intoxications par mise en place d'un traitement symptomatique et de soutien, de mesures de décontaminations et par usage des principaux antidotes soit généralement très bien maîtrisée par les praticiens vétérinaires, la connaissance précise de tous les toxiques existants et de leurs effets spécifiques est impossible. De plus en raison du faible pourcentage des consultations canines représentées par des toxiques rares ou inconnus pour les praticiens, la toxicologie fait l'objet de peu de formations pour les vétérinaires. Toutes ces raisons expliquent l'existence de structures spécialisées dans la toxicologie vétérinaire consultables par téléphone pour les praticiens : les centres antipoison vétérinaires. Celles-ci regroupent un très grand nombre de données toxicologiques, et disposent de bases d'informations permettant de recenser presque tous les toxiques et leurs effets connus à ce jour. De plus des guides de toxicologies, sous forme de livres ou de sites internet sont aujourd'hui également à disposition des vétérinaires.

Ces soutiens pratiques et théoriques pour les praticiens permettent souvent une instauration rapide d'un traitement adapté pour lutter efficacement contre les effets d'une intoxication et pallient l'impossibilité de connaissance de l'ensemble des toxiques existants et des modalités de traitement de leurs intoxications associées.

2. Une intoxication sous diagnostiquée

Les mycotoxines trémorigènes ne sont pas responsables d'un grand pourcentage des intoxications canines, d'autres toxiques sont en effet bien plus incriminés. En témoignent les données du CNITV en 2017 : seulement 0,2 % des appels concernaient des mycotoxines diverses (trémorigènes, aflatoxines, ochratoxines, ergot...) et seulement 65,8 % de ceux-ci concernaient des intoxications canines. En comparaison la même année le chocolat et l'oignon ont représenté respectivement 6 % et 4,3 % des appels et ceux-ci ont été émis pour des chiens intoxiqués dans respectivement 92 % et 62 % des cas. Cependant de 2012 à 2015 le CNITV a observé une nette augmentation du nombre de probables intoxications canines aux noix moisies (Adamczyk et al., 2016).

L'absence de connaissance de ce toxique entraîne très probablement un sous diagnostic de cette intoxication. De plus étant donné le très grand pourcentage de rétablissement total des chiens suite à un traitement symptomatique, la recherche de l'étiologie de ces intoxications est très rarement réalisée. Il est en effet courant en médecine vétérinaire que des intoxications se résolvent sans que la nature du toxique responsable n'ait été déterminée.

Parmi les toxiques réputés comme convulsivants, certains sont plus fréquemment incriminés ou connus par les praticiens vétérinaires et de ce fait plus souvent suspectés par ces derniers. Citons les exemples du métaldéhyde ayant représenté 0,6 % des appels (dont 66 % émis pour des chiens) reçus par le CNITV en 2017. Le chloralose et les pyréthrinoides ont, eux, représenté respectivement 1 % (dont 68 % de chiens) et 1,2 % (dont 55 % de chiens) de ces communications téléphoniques. Ceci démontre bien que d'autres toxiques à dominantes nerveuses sont : soit bien plus fréquemment impliqués dans des intoxications canines, soit au minimum plus suspectés par les vétérinaires que les mycotoxines trémorigènes dans les cas d'intoxication avec présence de troubles neuro-musculaires.

3. Facteurs influençant la connaissance du toxique

Différents facteurs peuvent influencer sur la probabilité de la connaissance, par les vétérinaires Français, de la toxicité des mycotoxines trémorigènes et de leur présence dans les aliments moisies, les noix moisies, le compost ou les poubelles. Bien qu'il soit difficile de déterminer l'origine des connaissances des praticiens tant celles-ci peuvent être diverses et avoir été acquises durant de très longues périodes, plusieurs cas de figures peuvent tout de même expliquer la connaissance de ce toxique.

La toxicité des mycotoxines trémorigènes est de nos jours enseignée dans les écoles vétérinaires Françaises, ce toxique est normalement inclus dans l'enseignement de toxicologie destiné aux étudiants. Cependant il s'agit d'une information très spécifique parmi le corpus de connaissance à acquérir par les vétérinaires, ceci explique que ce toxique n'est pas forcément connu des praticiens. De plus le premier cas démontré d'intoxication au pénitrème A date de 1979 (Richard and Arp, 1979) et l'intérêt porté aux mycotoxines trémorigènes dans le cadre des animaux domestiques n'a réellement débuté qu'au début des années 80. Les enseignements de toxicologie datant d'avant le milieu des années 80 n'ont donc pas dû faire mention de ce toxique. Ceci peut expliquer que certains des plus anciens praticiens, ayant été formés antérieurement à cette date, n'aient jamais eu connaissance de ce toxique.

L'absence de connaissance de ce toxique lors de la pratique vétérinaire peut cependant être palliée de différentes façons. Ainsi en cas d'anamnèse d'un propriétaire mentionnant une consommation d'un aliment moisi ou de compost, les vétérinaires décident parfois de contacter un centre antipoison vétérinaire ou de consulter un guide de toxicologie. Dans les deux cas il y a de fortes chances que le vétérinaire apprenne l'existence des mycotoxines trémorigènes et leur toxicité. De même, le recours à l'avis d'un collègue ayant déjà rencontré un cas similaire et s'étant renseigné sur le sujet aura la même conséquence. L'occurrence d'un cas d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au cours de la carrière d'un praticien aura alors en général pour conséquence l'inclusion de cette possibilité dans ses futurs diagnostics différentiels concernant des chiens avec des symptômes compatibles.

Enfin la pratique d'une activité vétérinaire dans une zone où l'intoxication aux noix moisies est fréquente aura bien évidemment tendance à accroître grandement la connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes des cliniciens.

L'anamnèse est donc le principal outil diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, les signes cliniques engendrés par ce toxique peuvent aussi aider le praticien dans sa recherche étiologique à condition que celui-ci ait connaissance de l'existence et de la toxicité de ces métabolites fongiques. Seule l'analyse du contenu des vomissements peut fournir un diagnostic de certitude d'exposition orale à un aliment altéré, du compost, ou des noix moisies.

3) Un diagnostic de certitude analytique

Le diagnostic de certitude d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes consiste à mettre en évidence la présence de roquefortine C ou de pénitrème A dans les vomissements, le contenu digestif, le sang ou l'urine de l'animal intoxiqué ou dans le substrat suspecté d'être à l'origine de l'intoxication (Barker et al., 2013). En cas de décès du chien des prélèvements post mortem de foie, de rein et de cerveau peuvent également être analysés pour la détection de ces toxiques (Eriksen et al., 2010). La mise en évidence de la présence d'une espèce fongique et son identification précise en tant que membre du

genre *Penicillium*, et espèce recensée comme capable de la synthèse de pénitrème A et/ou de roquefortine C est également possible. Cependant celle-ci n'indique pas pour autant la présence de ces mycotoxines. L'ensemble de ces analyses diagnostiques est uniquement réalisable dans des laboratoires spécialisés.

1. Détection des moisissures

a) Méthodes de détection

La recherche de moisissure dans l'alimentation est une analyse beaucoup moins fréquemment réalisée chez les carnivores domestiques que pour les animaux de rente. De nombreux laboratoires spécialisés dans la mycologie sont de nos jours capables d'identifier des espèces mycéliennes grâce à différentes techniques. Les principales méthodes d'identification des moisissures sont les suivantes :

Les méthodes d'identification phénotypique :

-Méthode « classique » : identification des moisissures grâce à des critères de classification microscopiquement ou macroscopiquement observables dont notamment les caractéristiques des filaments (septés ou non), de reproduction (présence de zygosporangies, d'ascospores ou d'asques, de basides ou de basidiospores...), de multiplication végétative (spores endogènes ou exogènes, ...) et les aspects des cultures après quelques jours de croissance. Les avantages de cette technique sont son faible coût et sa rapidité en revanche toutes les espèces de champignons ne sont pas identifiables par cette méthode en raison d'un manque de spécificité pour certaines espèces mycéliennes, ou d'une absence de multiplication végétative dans les conditions des milieux d'isolement (Carlotti, 2014).

-Méthode protéique : contrairement aux bactéries il est relativement compliqué d'identifier des espèces mycéliennes à partir de leurs capacités à se développer sur des milieux de cultures spécifiques. Pour cette raison l'identification par méthode classique est souvent réalisée conjointement à cette technique. Cependant l'utilisation récente de la spectroscopie de masse semble prometteuse, en effet celle-ci permet la réalisation d'un profil de spectres de masse pour chaque espèce analysée. Celui-ci est ensuite comparé à tous ceux d'une base de données contenant tous les profils de souches référencées. La limite de l'utilisation de cette technique réside actuellement dans la faible représentativité des bases de données, encore loin de contenir les profils de spectres de la majorité des espèces et des souches de moisissures (Carlotti, 2014).

Les méthodes d'identification moléculaires :

-Méthodes de comparaisons de séquences génomiques : cette technique est basée sur l'utilisation de séquences particulières du génome appelées marqueurs génomiques. Les plus fréquemment utilisés sont les séquences ARNr28S (codante pour l'ARN ribosomique 28S) et ITS1 ou ITS2 (régions intergénomiques non transcrites). L'analyse uni locus de génomes grâce à l'une de ces 2 séquences, ou multi locus par utilisation combinée des 2 marqueurs permet une très bonne identification des genres mycéliens suite à l'extraction des acides nucléiques du mycélium, leur amplification à l'aide d'amorces et leur comparaison à des séquences référencées. Pour l'identification précise des espèces mycéliennes le recours à d'autres marqueurs tels que les gènes de ménage est nécessaire. L'inconvénient principal de ces techniques reste leur coût et le matériel nécessaire à leur mise en œuvre, cependant elles sont plus rapides que les méthodes d'observation et utilisables pour toutes les espèces de champignons (Carlotti, 2014).

-Nouvelles méthodes : de récentes techniques telles que la PCR en temps réel ont permis la mise au point de tests de détection-identification directs pour certaines espèces mycéliennes, qui permettent parfois une identification en quelques heures seulement (Carlotti, 2014).

b) Intérêt et réalisation pratique en France

De nombreux laboratoires proposent la réalisation d'identification d'espèces de moisissures en France, mais peu d'entre eux la pratiquent en routine sur l'alimentation des animaux de compagnie. Il n'existe pas de normes sur la réalisation des prélèvements chez les animaux de compagnie, en pratique la manière la plus simple de réaliser ceux-ci est de contacter le laboratoire d'analyse pour connaître les modalités à respecter avant l'envoi et lors du transport. De manière générale il est important d'éviter les contaminations du prélèvement lors de sa réalisation et d'envoyer celui-ci dans des conditions limitant l'augmentation de l'altération de l'aliment par les moisissures (Fangeat, 2008). À titre d'exemple les recommandations de prélèvement de compost, du laboratoire LABOCEA (Laboratoire public, Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne) sont les suivants : utilisation d'un flacon plastique stérile double fermeture d'au moins 500mL avec large ouverture, se laver les mains avant le prélèvement et ne pas parler durant la réalisation de celui-ci, prélever 500g, identifier l'échantillon avec un marqueur indélébile, joindre la feuille d'analyse, transport réfrigéré le plus rapide possible et de durée inférieure à 48 h, envoi du lundi au jeudi si possible (Source : <https://www.labocea.fr/agroalimentaire/recherche-de-mycotoxines/>).

La réalisation d'un prélèvement de contenu digestif ou d'aliment suspecté d'être altéré par une espèce de *Penicillium* ne présente pas de réel intérêt dans le cas des intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes. Ainsi même si la présence d'une telle moisissure est démontrée, cela ne signifie pas pour autant la présence concomitante de roquefortine C ou de pénitrème A. De plus les espèces du genre *Penicillium* sont très fréquemment présentes dans les aliments altérés, le compost ou les déchets alimentaires (Rundberget et al., 2004). Ainsi la présence du champignon dans l'échantillon analysé n'est pas synonyme de son implication dans l'intoxication, bien que celle-ci soit fortement probable. Enfin la recherche d'une telle espèce de moisissure ne se réalise que dans un contexte de forte suspicion qui ne pourrait alors qu'être renforcée et non confirmée, l'intérêt pour le propriétaire où le vétérinaire est donc très limité.

2. Détection des mycotoxines trémorigènes

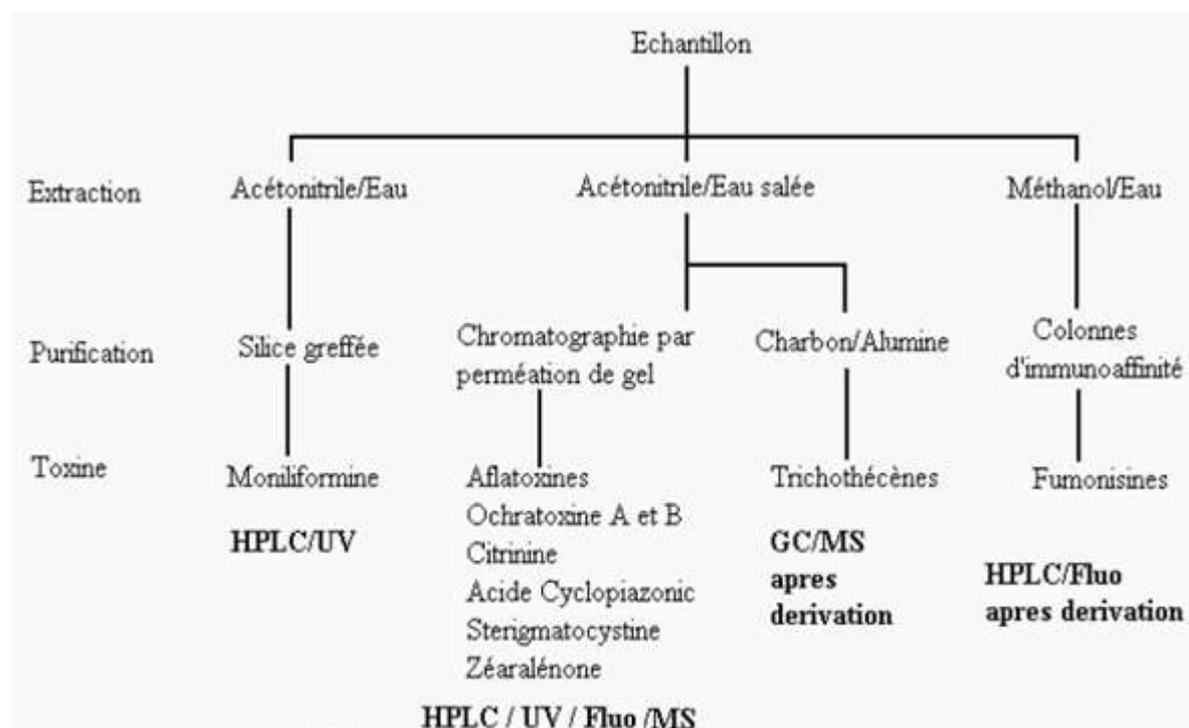
a) Méthodes de détection

Des méthodes immuno enzymatiques basées sur des tests ELISA ont récemment été mises au point et permettent aujourd'hui, grâce à des automates, le dosage qualitatif ou quantitatif et simultané des principales mycotoxines impliquées dans l'altération de l'alimentation des animaux de rente, en moins d'une heure : Aflatoxines (B1, B2, G1, G2), déoxynivalénol, fumosines, ochratoxine A, Tricothécènes, zéralénones (Source : <https://www.fossanalytcs.com/en/products/mycofoss>). Cependant ces méthodes ne sont pas disponibles pour le dosage de la roquefortine C et du pénitrème A probablement

en raison de leurs faibles et rares incidences pathologiques et économiques dans les filières des animaux de rentes.

Les méthodes de dosage quantitatif du pénitrème A et de la roquefortine C sont des méthodes physico. Ces méthodes sont variées mais suivent une même succession d'étapes : l'extraction, la purification, la séparation et l'étape de détection ou de caractérisation des mycotoxines.

Tout d'abord l'homogénéisation de l'échantillon à analyser est nécessaire, puis une extraction des métabolites secondaires fongiques grâce à un solvant organique adapté est réalisée. Pour les 2 mycotoxines trémorigènes nous intéressant dans ce travail, celui –ci se trouve souvent être un mélange d'acétonitrile et d'eau. L'étape de séparation consiste à la réalisation d'une chromatographie, il peut s'agir d'une chromatographie sur couche mince, d'une chromatographie liquide (à haute performance ou non) ou d'une chromatographie en phase gazeuse (Gauthier, 2016a). La dernière partie de l'analyse consiste en une identification accompagnée d'une quantification de la molécule détectée, celle –ci peut être révélée par fluorescence, spectrophotométrie, radiodétection (Gauthier, 2016a) mais surtout par spectroscopie de masse. Les différentes méthodes de dosage physico chimiques des mycotoxines sont représentées sur la Figure 37 ci-dessous :



HPLC : chromatographie liquide à haute performance, **UV** : ultraviolet, **Fluo** : Fluorescence, **GC** : chromatographie gazeuse, **dérivation** : étape de transformation des composants non volatils en composants volatils afin de pouvoir procéder à une chromatographie gazeuse. **MS** : Spectroscopie de masse

Figure 37 : Différentes méthodes de dosage physico chimiques de mycotoxines d'intérêt dans l'alimentation des animaux de rente (d'après Fangeat, 2008)

Bien que toutes ces méthodes ait été historiquement utilisées pour l'analyse quantitative de nombreuses mycotoxines, de nos jours la technique la plus sensible, la plus spécifique, la moins onéreuse, la plus facilement automatisable (Jeunot, 2005), permettant d'analyser simultanément la présence de plusieurs métabolites secondaires fongiques est la chromatographie liquide à haute

performance couplée à la spectroscopie de masse en tandem (HPLC-MS/MS) (Fangeat, 2008). Une spectroscopie de masse en tandem consiste simplement à répéter une spectroscopie de masse sur un ion ayant lui-même été isolé par cette méthode, les fragments ainsi obtenus permettent une meilleure précision de cette méthode d'identification.

Des protocoles analytiques pour le dosage de la roquefortine C et du pénitrème A, couplant une chromatographie en phase liquide, simple ou à haute performance, et une spectroscopie de masse, simple ou en tandem, ont démontré leur efficacité sur des échantillons alimentaires (Rundberget and Wilkins, 2002), des vomissements ou du contenu digestif (Eriksen et al., 2010), des échantillons urinaires et de sérum (Tor et al., 2006), et même sur des prélèvements de foie, de rein, de cerveau et de diverses parties du tube digestif (Moldes-Anaya et al., 2012). Certains auteurs recommandent même l'utilisation de bile pour ce dosage en cas d'absence de contenu digestif, en raison de la massive excrétion biliaire de ces métabolites (Lowes et al., 1992). Ces protocoles analytiques des mycotoxines présentent les défauts d'être très complexes et de nécessiter une grande rigueur lors de leur réalisation, cependant ces inconvénients ne sont plus réellement problématiques en raison de l'utilisation d'automates pour la réalisation de ces dosages. La sensibilité de ce type de méthodes est de très bonne, avec des limites minimales de détection du pénitrème A de l'ordre du ng/mL. Précisément, les études témoignent d'une limite de détection de 10 ng/g avec une technique de dosage de LC-MS (Rundberget and Wilkins, 2002), et de 5 ng/g (Rundberget and Wilkins, 2002) et 1 ng/mL (Eriksen et al., 2010) avec une technique de dosage de LC-MS/MS. Eriksen et ses collaborateurs ont même défini une limite minimale de quantification du pénitrème A par LC-MS/MS de 8 ng/mL (Eriksen et al., 2010).

La réalisation de telles analyses nécessite de l'équipement très spécifique et onéreux, uniquement à disposition de laboratoires spécialisés. En règle générale les analyses sont réalisées à l'aide d'automates capables de réaliser à la fois des chromatographies liquides et des spectroscopies de masse.

b) Intérêt du diagnostic analytique

L'intérêt de la détection des mycotoxines trémorigènes dans un échantillon alimentaire issu du tube digestif, d'organe ou de fluide corporel est la mise en évidence certaine de leur consommation. Leur présence dans l'organisme n'est effectivement pas physiologique. En autres termes, dans le cas de présence de symptômes suspectés d'être liés à la consommation d'un aliment moisi ou de compost, la détection analytique de pénitrème A ou de roquefortine C est un diagnostic de certitude d'une telle intoxication, contrairement à la mise en évidence seule de la présence d'une de leur moisissure sécrétrice. En revanche, bien que l'absence de détection de ces métabolites lors d'une analyse doive pousser le clinicien à investiguer d'autres hypothèses diagnostiques, celle-ci n'écarte pas totalement la possibilité d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes. En cas de mauvaise réalisation de prélèvement, ou d'acheminement de durée trop importante ces molécules peuvent possiblement être altérées.

La réalisation d'analyses pour l'obtention d'un diagnostic de certitude, dans un cas de suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes, peut être très intéressante lors d'absence d'anamnèse. Effectivement dans le cas d'une consommation d'un aliment moisi, de compost ou du contenu d'une poubelle rapportée par le propriétaire et en présence des signes cliniques typiquement rencontrés dans l'intoxication, la réalisation d'une analyse ne présente que peu d'intérêt si ce n'est la

confirmation d'une très forte suspicion. En revanche en l'absence de tels renseignements celle-ci peut avoir un rôle important lors d'intoxications nerveuses sévères. En effet de nombreux cas d'empoisonnements de chiens aux convulsivants ont lieu chaque année en France, les principaux toxiques responsables sont le métaldéhyde, la strychnine ou encore les inhibiteurs de cholinestérase. Si certaines intoxications peuvent être accidentelles, d'autres sont parfois liées à des actes de malveillance (Lowes et al., 1992). Lors d'une suspicion d'un acte d'empoisonnement volontaire par un propriétaire, des analyses toxicologiques permettant la détection des poisons fréquemment utilisés lors de ces empoisonnements volontaires sont parfois réalisés dans des laboratoires de toxicologie, en particulier pour la strychnine. Ainsi dans les cas où la présence de ces toxiques n'est pas retrouvée dans les échantillons issus d'animaux fortement suspectés d'être victimes d'intoxications volontaires et ayant été atteints de convulsions ou tremblements généralisés, certains auteurs suggèrent que les laboratoires de toxicologie devraient ré examiner ces échantillons négatifs afin de déterminer si des mycotoxines trémorigènes y étaient présentes (Lowes et al., 1992). La mise en évidence de pénitrem A ou de roquefortine C discréditerait ainsi l'hypothèse d'un acte malveillant au profit d'une intoxication liée à la consommation d'une denrée contenant des mycotoxines trémorigènes.

De plus lors de contextes potentiellement favorables à l'ingestion de noix moisis tels qu'une période de divagation dans le jardin ou dans les alentours du domicile d'un chien en période hivernale dans une région avec la présence de nombreux noyers, l'apparition de troubles nerveux en l'absence de causes plus probables que l'ingestion d'un potentiel toxique pourrait apparaître comme une justification de réalisation de la recherche de pénitrem A et de roquefortine C. Si celle-ci s'avérait positive elle permettrait alors de certifier l'origine des symptômes et de prévenir d'autres intoxications en identifiant l'origine des troubles des animaux.

En conclusion, bien qu'utile comme diagnostic de certitude, l'intérêt de la recherche analytique du pénitrem A et de la roquefortine C est variable selon les modalités des cas d'intoxication. Comme tout examen complémentaire celle -ci doit faire suite à une suspicion clinique et sa réalisation doit apporter un intérêt à l'animal ou son propriétaire.

c) Une analyse compliquée par un manque de données

Dans l'étude menée par Tiwary et ses collaborateurs du pénitrem A et de la roquefortine C ont été retrouvés dans le contenu du tube digestif et le sérum d'un animal intoxiqué, mais seule de la roquefortine C a été détectée dans les urines. Dans chacune des analyses quantitatives effectuées le pénitrem A a été retrouvé en quantité inférieure par rapport à la roquefortine C. Ceci a fait suggérer aux auteurs, convaincus de l'absence de caractère trémorigène de la roquefortine C, la possibilité que lors des cas déjà démontrés d'intoxication à la roquefortine C sans présence conjointe de pénitrem A, celui -ci était probablement en trop faible quantité pour être détecté en raison d'un manque de sensibilité de la méthode de détection. Ils ont d'ailleurs suspecté que le pénitrem A était en trop faible concentration dans les urines du chien, analysées durant leur étude, pour être détecté malgré la très bonne sensibilité de la technique d'analyse utilisée (LC-MS/MS). Ils ont même émis l'hypothèse que la présence de roquefortine C pourrait être un biomarqueur positif de la présence de pénitrem A dans un échantillon biologique issu d'un chien intoxiqué. La quantité de roquefortine C étant supérieure à celle de pénitrem A dans les échantillons, la mise en évidence de roquefortine C pourrait alors dans ce cadre être une méthode diagnostique plus sensible de l'intoxication au pénitrem A (Tiwary et al., 2009). Néanmoins ces suppositions nécessitent d'être étayées par des études complémentaires.

La faible connaissance des paramètres toxicocinétiques des 2 mycotoxines recherchées dans notre analyse pose de réelles difficultés dans la réalisation et l'interprétation de l'analyse. En effet, comme mentionné, une étude menée sur les rats a démontré que 24 h après administration de roquefortine C, 3,6 à 5,7 % de celle-ci était éliminé par voie urinaire et 45 à 76 % par voie fécale (cité par Tiwary et al., 2009). Cependant si d'une part ces données sont inexistantes pour le pénitrème A chez les rongeurs, elles sont de plus totalement inconnues pour ces 2 mycotoxines dans l'espèce canine. De plus la durée de persistance des mycotoxines dans le sérum, l'urine et au sein des organes n'est pas plus renseignée dans la littérature. Ces raisons pourraient aussi expliquer l'absence de détection de pénitrème A dans les urines de chiens dont le sérum contenait pourtant cette mycotoxine et qui étaient donc intoxiqués (Tiwary et al., 2009). Cependant une absence totale d'élimination urinaire de ce métabolite ou un prélèvement urinaire trop précocement ou tardivement réalisé pourraient également expliquer cette absence. Enfin la durée de stabilité de ces molécules dans des échantillons sanguins ou d'urine, transportés avec ou sans réfrigération, associés ou non à une étape de congélation n'a fait l'objet d'aucune publication. Moldes et ses co auteurs ont par contre démontré que la détection de pénitrème A sur des tissus ayant subi une congélation était possible (Moldes-Anaya et al., 2012). Les modalités d'envoi des échantillons alimentaires ou des contenus digestifs des cas d'intoxication démontrés au pénitrème A et à la roquefortine C ne sont jamais mentionnés dans les articles concernés. Quoiqu'il en soit, dans ces derniers le transport n'a pas empêché la détection des mycotoxines.

Toutes ces raisons ont pour conséquence que le moment opportun de réalisation des prélèvements urinaires ou sanguins après une exposition orale aux mycotoxines trémorigènes est inconnu dans l'espèce canine. De plus l'excrétion urinaire du pénitrème A en quantité suffisante pour permettre sa détection n'a toujours pas été prouvée. Étant donnée le délai d'action rapide des mycotoxines trémorigènes, un prélèvement de sérum quelques heures après ingestion de l'aliment incriminé devrait permettre la détection de ces toxiques. Cependant la durée maximale d'intérêt de réalisation de cette prise de sang reste inconnue en l'absence de meilleures connaissances sur la pharmacocinétique de ces toxines.

d) Réalisation pratique en France

À la connaissance de l'auteur jusqu'à très récemment la recherche de pénitrème A sur des denrées alimentaires n'était pas disponible en France, et un unique laboratoire « CAPINOV » proposait la détection de roquefortine C sur des céréales et leurs produits dérivés dans le cadre des animaux de rente par la méthode de LC-MS/MS. Ceci ne permettait donc pas aux vétérinaires Français d'avoir recours au diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine.

Depuis 2022 le laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab situé au sein du Campus vétérinaire de VetAgro Sup, basé à Marcy-l'Étoile dans le département du Rhône, propose la réalisation du dosage quantitatif du pénitrème A et de la roquefortine C sur les urines de chiens. La méthode d'analyse utilisée est une LC-MS/MS, celle-ci est donc maintenant à disposition des vétérinaires praticiens Français.

Partie II : Étude rétrospective, prospective et analytique de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes grâce aux données du CNITV et aux méthodes analytiques du laboratoire Toxlab

I) Objectifs

A) Étude rétrospective

L'étude rétrospective réalisée et présentée dans ce travail se compose de deux parties, la première consiste en une analyse des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 concernant une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies. L'objectif de cette étude était de déterminer les éléments anamnestiques, cliniques et épidémiologiques de l'intoxication de chiens suite à l'ingestion de ces fruits en décomposition, afin d'aider les vétérinaires praticiens dans sa suspicion ou son diagnostic.

La seconde partie est une étude rétrospective des suspicions d'intoxications de chiens à tous les substrats potentiellement source de mycotoxines trémorigènes, recensées lors d'appels reçus par le CNITV de Mars 2021 à fin Mars 2022. Le but de cette analyse était également de mettre en évidence les éléments épidémiologiques et les signes cliniques caractéristiques des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes, mais aussi d'évaluer l'importance relative et les spécificités des différents substrats alimentaires impliqués, dont notamment celles des noix moisies.

Une fois présentés les résultats de ces deux travaux rétrospectifs seront comparés aux cas démontrés et suspectés d'intoxication présents dans la littérature ainsi qu'entre eux.

B) Étude prospective

L'étude prospective menée de Mars 2021 à Avril 2022 consistait à rappeler les vétérinaires ayant contacté le CNITV, pour un chien suspecté d'avoir été intoxiqué par des mycotoxines trémorigènes, dans un délai de quelques jours après leurs appels initiaux à ce centre antipoison. Les objectifs de cette étude étaient multiples. Premièrement ils consistaient à déterminer l'évolution de l'état des chiens victimes de cette intoxication après leur prise en charge par un vétérinaire. De plus ils étaient constitués du recueil des modalités des traitements administrés, ainsi que de la durée et du déroulement de l'hospitalisation des animaux. La détermination des éléments ayant entraîné les suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ou les appels au centre antipoison faisaient également partie des buts de cette étude. Enfin les derniers objectifs de ce travail étaient de mesurer la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité pour l'espèce canine au sein de la profession vétérinaire, et d'obtenir l'avis de praticiens au sujet de l'intérêt de la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique pour cette intoxication. Les informations issues des résultats cette étude seront notamment discutées en raison de leur intérêt dans le pronostic des chiens intoxiqués et de leur importance dans la gestion des cas d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires Français.

C) Étude analytique

L'objectif de cette dernière étude consistait en la description de la méthode analytique de dosage du pénitrème A et de la roquefortine C par LC-MS/MS, récemment mise en place par le laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab en 2022, et à l'analyse d'échantillons urinaires de chiens, suspectés d'avoir été intoxiqués par ces mycotoxines, grâce à ce procédé.

L'objectif principal de ces 3 études était la mise au point d'une démarche diagnostique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien, par identification des facteurs épidémiologiques, cliniques et anamnestiques devant entraîner sa suspicion. De plus cette thèse avait pour but de préciser le déroulement et la gestion actuelle de ces cas d'intoxication par les vétérinaires Français, depuis la consommation du toxique jusqu'à la rémission totale des symptômes. Enfin l'évaluation de l'intérêt de la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique lors de ce type d'intoxication, et celle de l'état de connaissance actuel des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire, et de ses conséquences, constituaient également des objectifs dans ces études.

II) Matériel et méthode

A) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication aux mycotoxines tremorigènes et/ou aux noix moisies

1) Le CNITV et la base de données V-Tox®

1. Présentation du CNITV

Le centre national d'informations toxicologiques vétérinaires (CNITV) est une association à but non lucratif, régie par la loi du 4 Juillet 1901, créée en 1976 par le professeur Guy LORGUE et implantée sur le campus vétérinaire de VetAgro Sup à Marcy l'Étoile dans le département du Rhône. Le CNITV ne reçoit aucune subvention publique et son activité de centre antipoison est financée par les cotisations ou dons des vétérinaires adhérents, et les dons des particuliers. Cette activité de centre antipoison est l'une des principales fonctions du CNITV, celui-ci constitue la première structure de ce type en Europe en termes d'appels reçus avec plus de 23 000 appels par an.

La ligne téléphonique du CNITV destinée à l'activité de centre antipoison est ouverte 7 jours sur 7, 365 jours par an de 8h30 à minuit, pour les vétérinaires et les particuliers dans le cadre d'intoxications d'animaux domestiques ou sauvages. Lors de ces échanges téléphoniques les missions du CNITV sont : de fournir des informations sur les traitements des intoxications, d'apporter une aide diagnostique et d'évaluer le risque encouru par les animaux ayant été en contact avec un potentiel toxique. La réponse téléphonique est uniquement réalisée par un personnel ayant reçu une formation préalable à la toxicologie clinique, il s'agit alors d'une réponse rapide, fiable, personnalisée et impartiale. Toute notification d'appel est référencée dans la base de données V-Tox®.

L'équipe du CNITV est constituée d'un président docteur vétérinaire, de docteurs vétérinaires permanents, d'ingénieurs, d'une secrétaire et d'une cinquantaine d'étudiants vétérinaires. Chaque année ce centre assure la formation toxicologique d'une vingtaine d'étudiants vétérinaires volontaires de l'école vétérinaire VetAgro Sup. Une fois formés ces derniers assurent des gardes au niveau de la ligne téléphonique du centre antipoison.

Le CNITV assure également d'autres fonctions que celle de centre antipoison, dont notamment la réalisation de prestations scientifiques ou réglementaires, pour les industriels du médicament, telles que la pharmacovigilance vétérinaire, des expertises toxicologiques, de l'information médicale, du marketing médical et de la veille bibliographique. De plus de nombreuses formations en toxicologie clinique et en pharmacovigilance sont proposées par le CNITV. Ce centre constitue également un pôle documentaire disposant d'une bibliothèque recensant plus de 30000 articles référencés et dédiés à la toxicologie vétérinaire. Au même titre que les appels concernant des intoxications animales, les notifications de pharmacovigilances sont recensées en permanence par le CNITV et enregistrées sur la base de données Sentinel-Vet® qui constitue un outil d'assistance aux personnes chargées de mission de pharmacovigilance animale. Enfin depuis 2021 toutes les réponses téléphoniques du CNITV sont certifiées ISO 9001 : 2015.

2. Le logiciel et la base de données V-Tox®

Tous les appels reçus par le CNITV concernant un animal potentiellement intoxiqué sont recensés dans le logiciel V-Tox® qui constitue donc une base de données spécifique constituée de fiches relatives à

des suspicions d'intoxications animales. Créée en 1986, V-Tox® compte à ce jour plus de 365000 cas répertoriés.

En pratique lorsqu'un appel est reçu au CNITV, en plus de répondre à sa demande téléphonique le permanent du centre antipoison demande un certain nombre d'informations à l'appelant au sujet de son identité, sa localisation, des caractéristiques du ou des animaux intoxiqués et des modalités de consommation du toxique. Celles –ci sont d'abord notées de manière manuscrite, puis retranscrites dans une fiche V-Tox®, une fois celle-ci dument remplie un numéro lui est attribué lorsqu'elle entre dans la base de données V-Tox®. Un intérêt majeur de la numérisation des fiches réside dans la possibilité de recherche rapide de cas antérieurs d'intoxication à un même toxique.

La présentation d'une fiche V-Tox® est disponible en Annexe 3. Plus précisément afin de répertorier un appel dans une fiche du logiciel V-Tox® il faut compléter, dans la mesure du possible, les informations suivantes :

Dans la première rubrique sont à inscrire :

- La date du jour de l'appel, l'heure est en revanche automatiquement renseignée par le logiciel.
- La qualité du répondeur : choix entre Étudiant du CNITV, Permanent, Bénévole...
- Le motif d'appel : choix entre Analyse, Diagnostic, Expertise, Renseignement, Résidu, Traitement.
- Le lieu d'intoxication : choix entre Bâtiment d'élevage, Garage et Grange, Jardin, Maison, Milieu naturel, Pré, Promenade, Autre.
- Les circonstances de l'intoxication : choix entre Accident, Environnement, Malveillance, Prescription, Volontaire/Automédication.
- La case « avant consultation » : doit être cochée dans le cas où l'appelant est un vétérinaire qui a été mis au courant d'une intoxication animale mais n'a pas encore vu personnellement le patient.

Dans la rubrique Demandeur :

- La qualité du demandeur : Vétérinaire praticien, Particulier, École vétérinaire...
- Le nom du demandeur (non nécessaire pour les particuliers)
- Le code postal du demandeur

Dans la rubrique Animaux sont à noter :

- L'espèce et la race du ou des animaux potentiellement intoxiqués.
- La case « sauvage » : doit être cochée si l'appel concerne un animal non domestique.
- Le sexe du ou des animaux potentiellement intoxiqués : choix entre Femelle, Mâle, Mâles et Femelles, Mâle castré, Femelle castrée.
- L'âge du ou des animaux potentiellement intoxiqués : choix entre Très jeune (non sevré), Jeune, Adulte, Agé et précision de l'âge en année.
- Le poids en kg du ou des animaux potentiellement intoxiqués.

-Le nombre d'animaux exposés au toxique.

-Le nombre d'animaux atteints, morts et guéris au moment de l'appel.

Dans la rubrique Toxiques sont à mentionner :

-Tous les toxiques suspectés lors de l'appel, par l'appelant ou par le permanent du CNITV, pouvant être responsables de l'intoxication animale ayant motivé la sollicitation téléphonique du centre antipoison. Puis pour chacun d'entre eux il faut préciser :

-La voie d'exposition au toxique : choix entre Auriculaire, Cutanée, Oculaire, Orale, Respiratoire...

-La dose de toxique à laquelle l'animal a été exposé

-Le délai d'apparition des symptômes : choix entre <1h, 1-12h, 12-24h, 1-3j, 3-8j, 8-15j, >15j.

-Le délai d'évolution ou de durée des signes cliniques : choix entre <1h, 1-12h, 12-24h, 1-3j, 3-8j, 8-15j, >15j.

-Le nom déposé du produit et de la firme productrice (s'il s'agit d'un produit commercial).

-Une remarque (éventuelle).

-L'imputation du toxique, c'est-à-dire la plausibilité du lien entre l'exposition de l'animal et l'intoxication suspectée. Celle-ci est déterminée par un algorithme prenant en compte 6 paramètres à renseigner qui sont :

- L'exposition au toxique : choix entre Certaine, Inconnue, Possible.

- La compatibilité de la dose du toxique avec celle générant normalement une intoxication : choix entre Compatible, Compatibilité inconnue (dose toxique du produit non référencée), Inconnue (exposition à une dose inconnue de toxique), Peu compatible.

- La compatibilité du délai d'apparition des symptômes observé avec celui normalement attendu pour le toxique concerné : choix entre Absent (pas de symptômes), compatible, non compatible, inconnu (absence de connaissance du délai d'apparition des symptômes), très suggestif.

- La comptabilité du tableau clinique observé avec les signes cliniques normalement attendus suite à l'exposition au toxique concerné : choix entre Absent (absence de symptômes), Incomplet, Non observé, Peu compatible, Suggestif.

- La présence d'une autre explication pouvant expliquer l'état de l'animal : choix entre Absente, Possible, Probable.

- La case « proposition du CNITV » à cocher si le toxique concerné n'a pas été évoqué par l'appelant mais par le permanent du CNITV

L'ensemble de ces paramètres aboutit à une notation sur 13 de l'imputation du toxique qui est alors indiquée selon 4 possibilités : Certaine, Improbable, Peu probable, Probable.

Dans la rubrique symptômes et lésions sont à préciser :

-Chaque symptôme observé sur le ou les animaux suspectés d'intoxication : choix parmi une liste proposant un nombre très conséquent de symptômes différents, avec possibilité de renseigner un signe clinique non présent dans cette dernière si nécessaire.

-Une précision pouvant être ajoutée à chaque symptôme.

Dans la dernière rubrique :

-La fiabilité des renseignements fournis au sujet de l'intoxication : choix entre Moyennement fiable, Peu fiable, Très fiable.

-L'influence des conseils du membre du CNITV sur le traitement administré à l'animal : choix entre Complété, Conforté, Conseillé totalement, Corrigé, Non donné.

-L'évolution du cas : choix entre Favorable (animaux guéris au moment de l'appel), Inconnu, Non favorable (animaux morts au moment de l'appel).

-La gravité des symptômes de l'animal lors de l'appel : choix entre 0 symptômes, Bénin, Modéré, Sévère.

Enfin un dernier encadré au bas de la fiche permet aux permanents du CNITV d'ajouter une remarque à la fiche V-Tox[®]. Le remplissage de cette rubrique est libre, mais généralement un résumé rapide des informations sur la suspicion d'intoxication ne figurant pas déjà sur la fiche, les modalités du traitement conseillé et la source d'information ayant permis de répondre à l'appelant sont renseignés dans celle-ci.

Une fois la fiche complétée celle-ci est ajoutée à la base de données du CNITV et un numéro spécifique lui est attribué. Bien évidemment en raison de la brièveté des appels, il arrive fréquemment que certaines informations ne soient pas transmises aux permanents du CNITV lors des communications téléphoniques, ceci explique que de nombreuses fiches présentent des cases avec les mentions « inconnu(es) » ou « ? ».

En plus de permettre de retrouver les informations relatives à une suspicion d'intoxication spécifique le logiciel V-Tox[®] permet également de réaliser des recherches avancées dans l'ensemble des cas de la base de données du même nom. Cette recherche peut être basée sur un seul ou plusieurs critères. Par exemple il est possible de rassembler toutes les fiches concernant des intoxications avec un toxique donné pour toutes les espèces animales confondues depuis la création de la base de données. Mais il est aussi faisable de restreindre cette recherche aux intoxications liées à ce même toxique chez une espèce animale en particulier et sur une période de temps précisée. De plus étant donné la grande richesse de la base de donnée V-Tox[®] et le grand nombre d'appels reçus chaque année par le CNITV de nos jours, cette fonction de recherche du logiciel est un outil très intéressant pour la réalisation d'études rétrospectives dans le domaine de la toxicologie animale. En effet il est possible de réaliser une extraction des données, des fiches recensées lors d'une recherche sur V-Tox[®], vers un logiciel de traitement d'information afin de réaliser des études statistiques. C'est d'ailleurs ce procédé qui a été utilisé lors des 2 études rétrospectives présentées dans ce travail.

2) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies

1. Période d'étude

L'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV concernant des suspicions d'intoxications canines aux noix moisies a été effectuée sur une période de 11 ans s'étalant du 1^{er} Janvier 2009 au 31 Décembre 2019. À la connaissance de l'auteur il s'agit actuellement de la plus longue étude rétrospective au sujet de l'intoxication de chiens aux noix moisies, menée dans un centre antipoison Européen ou concernant les fruits provenant de l'espèce de noyer *Juglans regia*.

2. Sélection des appels de suspicion d'intoxication dans la base de données V-Tox[®]

Lors d'un appel reçu au CNITV pour une intoxication aux noix moisies, et donc aux mycotoxines trémorigènes, les permanents sont censés indiquer les toxiques « Noyer » et « Mycotoxines NP » dans la fiche V-Tox[®] correspondante. Ceci permet en effet de différencier ces suspicions des consommations d'autres substrats pouvant contenir des métabolites secondaires fongiques à toxicité nerveuse, tels que des aliments moisies ou du compost. Cependant en pratique il arrive fréquemment que le personnel du centre antipoison ne mentionne qu'un seul de ces 2 toxiques dans les fiches pourtant relatives à une consommation de noix moisies. Une correction préalable avait pour cela été effectuée par les docteurs vétérinaires permanents du CNITV sur toutes les fiches V-Tox[®] mentionnant les toxiques Noyer et/ou Mycotoxines et étant préalables au début de l'année 2020. Celle-ci avait abouti au fait que toutes les fiches concernant un appel pour un chien intoxiqué aux noix moisies avant 2020 présentaient bien ces 2 toxiques.

De ce fait, une recherche multi critères a été réalisée dans la base de données V-Tox[®] afin de rassembler les fiches relatives à des suspicions d'intoxication, rassemblant les 6 caractéristiques suivantes :

-L'appel a été reçu par le CNITV entre le 01/01/2009 et le 31/12/2019.

-Au moins un des animaux exposés était un chien.

-Au moins un animal présentait un symptôme (car un chien ne présentant pas de symptôme ne peut être considéré comme une victime d'intoxication).

-Les toxiques « Noyer » et « Mycotoxine NP » sont mentionnés (suite à la correction préalable).

-Une exposition au toxique « Possible » ou « Certaine » pour au moins 1 des 2 toxiques Noyer ou Mycotoxines NP.

- Une imputation « Probable » ou « Certaine » pour au moins 1 des 2 toxiques Noyer ou Mycotoxines NP.

Au total 186 fiches rassemblaient ces critères, les données fournies par celles-ci ont été extraites du logiciel V-Tox[®] puis retranscrites dans un tableur afin de réaliser une analyse statistique de ces suspicions d'intoxications.

3. Analyses statistiques

Les données des appels extraits de la base de données du CNITV ont été retranscrites manuellement dans le logiciel Excel® afin de réaliser une analyse statistique uniquement descriptive de ces suspicions d'intoxications canines aux noix moisies. En effet étant donné qu'aucune population à grand effectif de chiens intoxiqués aux noix moisies n'est référencée, aucune analyse comparative mathématique n'a été réalisée. De plus, s'agissant de notifications spontanées, elles ne pouvaient prétendre être représentatives d'une population animale exposée.

4. Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie

Les résultats de l'analyse statistique descriptive seront comparés à ceux d'une autre étude rétrospectives effectuée au CAPAE-Ouest sur l'intoxication de chiens à tous les substrats sources mycotoxines trémorigènes (Lheureux et al., 2018) et aux 29 cas démontrés d'intoxication au pénitèrème A ou à la roquefortine C présentés en Annexe 1 et Annexe 2.

Une partie des suspicions d'intoxications recensées dans cette étude rétrospective sont les mêmes que ceux analysés par Adamczyk, dans son article datant de 2016 consistant à réaliser une analyse descriptive de ces mêmes appels reçus au CNITV entre Janvier 2008 et Mars 2015 (Adamczyk et al., 2016). En plus d'avoir pu préciser certaines informations non mentionnées dans cet article sur ces cas, dont notamment les fréquences de certains symptômes rarement présents chez les chiens intoxiqués, cette étude permet ainsi également d'évaluer si les conclusions issues de l'analyse des cas supposés d'intoxication aux noix moisies entre 2008 et 2015 sont encore observables entre 2015 et 2019.

3) Étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines tremorigènes

1. Période d'étude

L'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV concernant des suspicions d'intoxications canines à tout type de substrat alimentaire pouvant être source de mycotoxines trémorigènes, consiste en une analyse de communications téléphoniques ayant eu lieu entre le 22 Février 2021 et le 31 Mars 2022, soit une durée d'un peu plus de 13 mois. Cette étude a été menée en parallèle de l'étude prospective qui a débuté le 1^{er} Mars 2021 et qui consistait à rappeler des vétérinaires quelques jours après leurs appels au CNITV pour des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes, le 1^{er} praticien rappelé avait ainsi initialement contacté le CNITV le 22 Février 2021.

2. Sélection des appels de suspicion

Cette étude rétrospective concernait tous les aliments potentiellement source de mycotoxines trémorigènes et pas seulement ceux liés à une consommation de noix moisies. Ceci avait pour conséquence que la mention du toxique « Mycotoxine NP » était à priori suffisante pour faire entrer une suspicion dans l'étude. Cependant la deuxième différence était que les fiches de 2021 et 2022

n'avaient pas fait l'objet d'une correction par les permanents du CNITV comme celles datant de 2009 à 2019. En raison de la réalisation conjointe de l'étude prospective, la sélection des cas n'a pas été réalisée par une recherche multicritère dans la base de données V-Tox[®], mais par un recensement et une séparation des cas entre ces deux études conjointes.

En effet étant donné l'objectif de l'étude prospective consistant à rappeler les vétérinaires contactant le CNITV au sujet d'une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes, dans les jours suivant leur appel initial, il était nécessaire pour l'auteur de consulter très régulièrement la base de données V-Tox[®]. Ainsi en pratique durant les 13 mois de l'étude, tous les 2 à 4 jours une recherche des fiches mentionnant le toxique « Mycotoxines NP » ou « Noyer » et datant de moins d'une semaine a été réalisée. Les fiches recensées étaient alors transmises sous forme de photo ou captures d'écran à l'auteur.

Une fois les fiches recensées, chacune d'entre elles était analysée. Tout d'abord d'autres critères d'inclusion que la mention d'au moins 1 des 2 toxiques Mycotoxines NP ou Noyer étaient absolument nécessaires à la sélection de la fiche :

-Au moins un des animaux exposés était un chien.

-Au moins 1 chien exposé présentait 1 symptôme (Les chiens asymptomatiques ne pouvant pas être considérés comme des victimes d'intoxication).

-L'appel reçu par le CNITV a été émis par un vétérinaire.

Le choix de ne sélectionner que des appels émanant de vétérinaires a été réalisé en lien avec les objectifs de l'étude prospective consistant à rappeler uniquement des suspicions d'intoxications rapportées par des professionnels de la santé animale, et dans le but d'obtenir une description des symptômes plus précise et fiable qu'avec des particuliers. Une exception a été réalisée au cours de cette étude, ainsi 1 seul appel émanant d'un propriétaire a été pris en compte car la sollicitation CNITV en question a entraîné la présentation du chien intoxiqué à un vétérinaire qui a pu être contacté par la suite.

Deuxièmement, l'imputation possible ou certaine attribuée à 1 des 2 toxiques cités était un critère déterminant de sélection des fiches mais pas exclusif. En effet les fiches reçues dataient en général de moins d'une semaine et n'avaient pas subi de correction préalable. La prise en compte des remarques manuscrites ainsi que les critères d'imputation (en particulier la mention d'une exposition probable ou certaine) permettaient d'inclure des fiches alors que, au contraire, certaines fiches imputées « possible » pour l'un des deux toxiques ont pu être exclues en raison d'une exposition probable à un autre toxique

Enfin seuls les termes « Mycotoxines NP » et « Noyer » ont été recherchés dans V-Tox[®], les permanents du CNITV étant formés ces dernières années pour mentionner systématiquement le toxique « Mycotoxines NP » sur la fiche informatique lors de toute consommation d'un aliment moisi, de compost ou de contenu de poubelles indéfini.

Au total, 77 fiches ont été sélectionnées au bout des 13 mois d'étude.

3. Analyses statistiques

Les données issues des appels reçus par le CNITV entre le 22/02/2021 et le 31/03/2022, pour des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ont été retranscrites manuellement dans le logiciel Excel[®] afin d'en réaliser une analyse statistique rétrospective uniquement descriptive.

Ainsi aucune information obtenue suite aux rappels des praticiens dans le cadre de l'étude prospective n'a été incluse dans ces données. L'analyse statistique réalisée après la fin de la période d'étude, sur des données précédemment collectées, constituait donc une étude rétrospective.

4. Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie

En plus d'une comparaison aux autres études rétrospectives d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes suspectées ou démontrées dans la littérature, les résultats de l'analyse statistique des appels reçus par le CNITV entre le 22/02/2021 et le 31/03/2022 seront comparés à ceux de l'étude rétrospective menée dans le même centre antipoison sur l'intoxication de chiens aux noix moisis entre 01/01/2009 et 31/12/2019. Ceci permettra notamment d'évaluer si la prise en compte d'autres substrats potentiellement source de mycotoxines trémorigènes que les fruits moisis des noyers, influe ou non dans l'épidémiologie et la symptomatologie des cas d'intoxication.

B) Étude prospective de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes de Mars 2021 à Avril 2022 au CNITV

1) Période d'étude

L'étude prospective présentée dans ce travail a été menée du 1^{er} Mars 2022 au 1^{er} Avril 2022 et consistait à rappeler tous les vétérinaires contactant le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes. Si le premier rappel a été bien émis le 01/03/2021, il fait suite à un appel initial passé au CNITV par un praticien le 22/02/2021. De même le dernier appel reçu par ce centre antipoison ayant été rappelé dans le cadre de cette étude a eu lieu le 27/03/2022, mais le dernier vétérinaire, à avoir été recontacté, l'a été le 01/04/2022.

2) Sélection cas de suspicion et modalités de rappel des vétérinaires

La sélection des cas de suspicion a été détaillée dans la présentation de l'étude rétrospective menée du 22/02/2021 au 31/01/2022 (Deuxième partie II) A) 3) 2.). Ainsi l'objectif de ce travail prospectif était de recontacter par téléphone tous les vétérinaires à l'origine des 77 suspicions recensées de la manière précédemment décrite.

Initialement il était prévu que les permanents du CNITV préviennent et demandent l'accord de l'appelant pour entrer dans l'étude et être recontacté, suite à quoi l'auteur devait être prévenu par ces mêmes permanents de l'horaire auquel rappeler le vétérinaire en question. En pratique cela n'a été possible que pour une minorité des suspicions. Comme expliqué précédemment la majorité des fiches V-Tox[®] sélectionnées l'ont été suite à la vérification tous les 3 à 4 jours par les permanents du centre antipoison, de la présence ou l'absence de nouveaux appels mentionnant les toxiques « Mycotoxines NP » ou « Noyer » dans la base de données du CNITV.

Une fois les suspicions entrant dans l'étude sélectionnées, selon les modalités expliquées dans la partie (Partie II ; II A) 3) 2.), le vétérinaire était retrouvé grâce au code postal et au nom renseignés sur la fiche V-Tox®. Des erreurs de transcription (nom mal orthographié, code postal erroné) ont eu pour conséquence que sur les 77 suspicions sélectionnées dans l'étude seuls 68 des praticiens à leur origine ont pu être recontactés.

Un délai volontaire de 48 h minimum était laissé entre l'appel initial du vétérinaire au CNITV et la première tentative de rappel du praticien, sauf pour deux cas où le praticien a été rappelé sous 24h. Plusieurs tentatives de contact étaient souvent requises et le délai nécessaire pour obtenir un entretien téléphonique avec les vétérinaires était variable. Le rappel le plus précoce a eu lieu 1 jours après l'appel initial et le plus tardif 23 jours après la première sollicitation du CNITV par le vétérinaire. La moyenne de ce délai était de 6,1 jours et sa médiane de 5 jours, ainsi la majorité des praticiens ont été rappelé dans la semaine suivant le cas clinique.

Lors du rappel des praticiens n'ayant pas encore donné leur accord pour être inclus dans l'étude prospective par l'auteur, la première question posée était de savoir s'ils souhaitaient répondre à un bref questionnaire téléphonique au sujet du cas clinique ayant entraîné leur sollicitation du CNITV. Au total 65 des 68 vétérinaires recontactés ont volontairement pris part à l'étude en se soumettant à ce questionnement, soit un très fort taux de réponse volontaire de 95,6 %. Les 3 refus de participation ont tous été justifiés par un manque de temps de la part des praticiens.

3) Questionnaire téléphonique destiné aux vétérinaires appelants

Les vétérinaires praticiens rappelés dans le cadre de cette étude prospective devaient répondre à un questionnaire téléphonique d'une durée moyenne de 5 à 10 minutes. La brièveté du questionnaire était le paramètre le plus important à préserver lors des appels, en effet il était primordial de ne pas gêner les praticiens dans leur activité professionnelle. Sa mise au point a donc été réalisée sans perdre de vue cette contrainte temporelle.

Le questionnaire auquel ont été soumis les vétérinaires dans cette étude prospective est présentée en Annexe 4. Celui-ci se compose de 5 parties :

-La première est consacrée à l'évolution de l'animal intoxiqué, en particulier des questions portant sur sa survie, la durée d'évolution de ses symptômes et la présence ou l'absence de séquelles sont posées aux vétérinaires.

-La seconde consiste à demander la description de la gestion de l'intoxication par les praticiens, dont notamment la nature des traitements administrés et la durée de l'hospitalisation des animaux (si celle-ci a eu lieu).

-La troisième partie du questionnaire se focalise sur l'origine de la suspicion d'une intoxication par le vétérinaire lors de la présentation de l'animal et sur son diagnostic différentiel.

-L'avant dernière partie a pour objectif d'évaluer la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité au sein de la profession vétérinaire, ainsi que de déterminer de la fréquence de l'intoxication liée à la consommation de ces métabolites fongiques.

-Enfin la dernière partie cherche à obtenir l'avis des vétérinaires au sujet de l'intérêt de réalisation d'un diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien, en laboratoire, dans le cadre de l'exercice libéral de la profession.

Le questionnaire comportait des questions ouvertes et fermées. Bien que les questions proposant seulement quelques possibilités de réponses pour les vétérinaires permettaient une analyse statistique plus simple, les réponses aux questions telles que celles demandant les modalités des traitements administrés aux animaux étaient trop variables pour être regroupées en quelques propositions uniquement.

4) Analyse statistique des réponses au questionnaire

Les réponses au questionnaire de cette étude prospective ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptive pour la majorité d'entre elles, suite à leur report manuel dans le logiciel Excel®. En revanche quelques questions ouvertes n'ont pas pu directement faire l'objet de cette analyse, les réponses données étant trop spécifiques ou variables, celles-ci ont alors au préalable été regroupées en différentes classes ou catégories pour être analysées de façon statistique. Enfin quelques rares mentions isolées provenant de divers appelants ont pu être citées dans les résultats, si celle-ci présentaient un grand intérêt.

5) Comparaison des résultats aux données présentes dans la bibliographie

Les résultats de cette étude concernant l'évolution des animaux intoxiqués, la gestion des intoxications par les vétérinaires et l'origine de leurs suspicions seront comparés aux données de la bibliographie dans la discussion. En revanche étant donné l'absence de publications concernant l'estimation de la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire en France et l'absence de possibilité de réalisation d'analyses pour ces praticiens avant 2022, ces données seront commentées mais ne pourront être comparées aux conclusions d'autres publications.

C) Étude analytique, méthode d'analyse du laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab

1) Présentation de Toxlab

Le laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab constitue un pôle d'expertise de diagnostic au sein du campus vétérinaire de VetAgro Sup. Son activité principale consiste en l'analyse d'échantillons biologiques provenant d'animaux domestiques ou sauvages dans des contextes intoxications. Ces prélèvements à visée analytique proviennent majoritairement de France, mais parfois aussi de pays étrangers limitrophes au territoire métropolitain Français. L'accueil téléphonique du laboratoire est ouvert toute l'année du lundi au vendredi de 8 h à 12 h et de 14 h à 17 h, et met à disposition des appelants des conseils techniques, ainsi que de l'aiguillage dans le choix des analyses toxicologiques à effectuer et dans l'interprétation de leurs résultats. Le compte rendu des résultats d'analyses toxicologiques est envoyé en moyenne dans un délai de moins de 3 semaines suite à la réception des échantillons biologiques. Lors de leur envoi ces derniers doivent être accompagnés d'une fiche de demande d'analyse dûment remplie (dans la mesure du possible).

Les principaux clients du laboratoire sont des vétérinaires praticiens, des particuliers, des laboratoires vétérinaires départementaux, des associations dont notamment celles œuvrant pour la protection

animale, ainsi que le réseau SAGIR de l'OFB (Office Français de la Biodiversité) agissant notamment avec l'aide des fédérations de chasse dans le but de la surveillance de la faune sauvage de France.

Toxlab dispose d'un parc analytique important permettant de disposer d'une méthode d'analyse adaptée à la recherche de nombreuses substances toxiques spécifiques. Plus précisément les toxiques minéraux tels que l'arsenic, le cadmium, le cuivre, le fer, le mercure, le plomb et le zinc sont dosés à l'aide de méthodes de spectrophotométrie d'absorption atomique. Les molécules organiques absorbant la lumière ultra violette (carbamates, strychnine...) sont détectées par une technique de chromatographie liquide couplée à un détecteur UV. Les raticides anticoagulants, de nombreux pesticides, le tétrahydrocannabinol et ses métabolites, ainsi que le pénitrem A et la roquefortine C sont depuis peu dosables grâce à une méthode de chromatographie liquide couplée à une spectroscopie de masse (LC-MS/MS) en tandem à très haute spécificité et sensibilité. Lors d'une recherche sans spécificité particulière du composé à détecter la réalisation d'une chromatographie gazeuse couplée à une spectroscopie de masse permet la détection d'un grand nombre de composés tels que des anti inflammatoires, des alcaloïdes, analgésiques... Dans le but de toujours fournir une meilleure qualité d'analyse à ses clients, Toxlab a réalisé depuis 2019 une importante revalidation de ses méthodes d'analyses. Le laboratoire s'engage à proposer à ses clients des méthodes d'analyse validées selon des critères internationalement reconnus et selon une démarche de qualité active, dans le but d'obtenir une accréditation COFRAC selon la norme EN ISO/CEI 17025.

L'ensemble des analyses toxicologiques proposées par le laboratoire Toxlab est disponible via le lien : <http://www.vetagro-sup.fr/wp-content/uploads/2022/01/Catalogue-Prestation-Toxlab-V1-2022.pdf>. Les modalités de prélèvement et d'envoi des échantillons biologiques sont détaillées dans le document : <http://www.vetagro-sup.fr/wp-content/uploads/2022/01/Y.Fiche-ToxLab-2021-V5.pdf>.

Enfin en plus de l'analyse d'échantillons biologiques, les autres activités de Toxlab consistent en : la recherche et le développement de nouvelles méthodes analytiques toxicologiques afin de proposer des méthodes et protocoles analytiques de plus en plus performants, la formation d'étudiants dans le domaine de la toxicologie clinique ou de la chimie analytique (Vétérinaires, Master, Doctorants ...) et le soutien technique à la recherche dont notamment dans les domaines de pharmacocinétique et de l'éco toxicologie.

2) Description du protocole analytique de dosage quantitatif du pénitrem A et de la roquefortine C par LC-MS/MS dans l'urine à Toxlab

1. Matériel et réactifs

La liste du matériel de laboratoire et des réactifs nécessaires aux dosages quantitatifs du pénitrem A et de la roquefortine C dans l'urine de chiens, selon le protocole analytique utilisé à Toxlab, est présentée dans le Tableau XV ci-après :

Tableau XV : Matériel et réactifs nécessaires aux dosages quantitatifs des mycotoxines trémorigènes dans l'urine, pour le protocole analytique utilisé à Toxlab

Matériel de laboratoire	Réactifs
-------------------------	----------

-Spatule -Multiplète automatique + combitips -Seringues et filtres (ref. RC membrane 0,2 µm, 4 mm syringe filters) -Tubes à essai (ref. 99449-16) -Tubes Eppendorf 1,5 mL -Balance de précision Mettler AE160	- Méthanol LC-MS Grade Hypersolv Chromanorm pour HPLC-Ultra LC-MS VWR (réf. 85800.320) -Acétonitrile pour HPLC LC-MS Grade VWR (réf. 83640.320P) -Eau MilliQ -Acide formique >98 % Sigma-Aldrich (ref. 33015-1L-M) -Formiate d'ammonium (ref. IU655417 VWR) -Pénitrème A (ref. BML-KC157-0005) -Roquefortine C (ref. R030S100MEVC)
--	--

Lors de la réalisation de ce protocole analytique au sein du laboratoire des consignes importantes de sécurité sont obligatoirement à respecter par les laborantins : travail sous hotte aspirante, port de gants, blouse et lunettes de protection.

2. Préparation des solutions étalons, étalonnage et préparation des phases mobiles

Une solution mère de pénitrème A à 100 ppm (parties par million : mg/L) est réalisée grâce à l'ajout de 5 mg de cette toxine sous forme solide dans une fiole jaugée complétée jusqu'au trait de jauge par une solution de méthanol LC-MS Grade. La roquefortine C est, elle, d'ores et déjà commandée sous forme de solution à 100 ppm lors de son arrivée à Toxlab. Une solution fille « Mix Mycotoxines » de concentration 1 ppm en roquefortine C et en pénitrème A est créée en mélangeant 10µL de chacune des 2 solutions mères précédentes avec 980µL de Méthanol LC-MS Grade. Toutes ces solutions sont conservées au congélateur.

Une gamme d'étalonnage (Tableau XVI) est ensuite préparée à partir de la solution « Mix Mycotoxines », d'urine et d'acétonitrile (ACN) :

Tableau XVI : Gamme d'étalonnage pour le dosage du pénitrème A et de la roquefortine C par LC-MS/MS à Toxlab

Point de gamme	Concentration en pénitrème A et roquefortine C (ppb*)	Solution Mix Mycotoxines (1 ppm*)	Volume d'Urine	Volume d'Acétonitrile
----------------	---	-----------------------------------	----------------	-----------------------

MYCO 2	2 ppb	10 μ L	1000 μ L	3990 μ L
MYCO 5	5 ppb	25 μ L	1000 μ L	3975 μ L
MYCO 10	10 ppb	5 μ L	100 μ L	395 μ L
MYCO 20	20 ppb	10 μ L	100 μ L	390 μ L
MYCO 30	30 ppb	15 μ L	100 μ L	385 μ L
MYCO 40	40 ppb	20 μ L	100 μ L	380 μ L
MYCO 50	50 ppb	25 μ L	100 μ L	375 μ L

ppb = partie par billion (μ g/L), ppm = partie par million (mg/L)

Enfin les phases mobiles des chromatographies liquides sont préparées en ajoutant 500 μ L de solution d'acide formique à 0,1 % dans des flacons contenant soit 500mL d'eau (phase mobile A) et 500 mL d'acétonitrile (phase mobile B).

3. Préparation des échantillons urinaires à analyser

100 μ L des échantillons urinaires sont prélevés et introduits dans un tube Eppendorf de 1,5mL. Puis 400 μ L d'ACN LC-MS Grade sont ajoutés dans ce tube, et celui-ci est homogénéisé à l'aide d'un vortex. Le mélange est ensuite centrifugé durant 5 minutes à température ambiante, à une vitesse de 3000 tours par minute. Suite à cette étape le surnageant contenu dans le tube est prélevé à l'aide d'une seringue, puis filtré sur un filtre polytétrafluoroéthylène avec des pores de 0,45 μ m et introduit dans un vial.

4. Analyse des échantillons par LC-MS/MS

À Toxlab le dosage du pénitrem A et de la roquefortine C est réalisé grâce à une méthode de chromatographie liquide couplée à une spectroscopie de masse en tandem (LC-MS/MS) grâce à un automate, de référence 1260 Infinity II LC-MS QQQ 6470 Agilent Technologies. Celui-ci permet la réalisation de dosages de très nombreuses molécules et peut servir dans de multiples domaines d'applications. En effet il peut aussi permettre d'évaluer la présence ou l'absence de nitrosamines dans

les produits pharmaceutiques, de pesticides dans les végétaux destinés à la consommation humaine ou animale, ou encore de résidus de médicament dans la viande.

La chromatographie liquide permet de séparer les constituants de l'échantillon analysé, celle-ci est réalisée à l'aide d'une colonne à chromatographie Purospher RP-18 endcapped 5 µm (réf. 1.50168.0001). Les phases mobiles permettant la séparation des éléments du mélange sont constituées d'un mélange d'eau et d'acide formique à 0,1 % pour la phase A (A) et d'un mélange d'acétonitrile et d'acide formique à 0,1 % pour la phase B (B). Les autres paramètres de cette chromatographie sont : un volume d'injection de 15 µL, un débit de 0,8 ML/min et une durée de 9 minutes. La composition de la phase mobile est variable au cours de la chromatographie, ce procédé se nomme une élution par gradient. Ainsi la phase mobile est constituée au début de l'expérience de 70 % de A et 30 % de B, puis varie jusqu'à atteindre 100 % de B au bout de quatre minutes pour une durée d'une minute. Cinq minutes après le début de la méthode le gradient évolue de nouveau pour que la phase mobile soit à nouveau constituée à 70 % de A et 30 % de B.

5. Contrôle qualité et actions correctives

La réalisation d'une gamme sur matrice permet d'éviter de nombreux problèmes dans le dosage tels que les rendements d'extractions ou des interactions entre les différents éléments de la matrice.

Pour chaque série d'échantillons un blanc et un blanc supplémenté, en pénitrème A et roquefortine C, sont réalisés. Si le dosage de l'échantillon blanc supplémenté n'est pas valide, c'est-à-dire si la concentration en pénitrème A ou roquefortine C déterminée diffère de plus ou moins 20 % de sa valeur réelle, les réactifs et la matrice sont vérifiés et si nécessaire, de nouveaux réactifs et matrice sont produits. Lorsque la gamme d'étalonnage n'est pas valide, à savoir que ses points diffèrent de plus ou moins 20 % des valeurs de concentration attendus, une nouvelle gamme est réalisée avec une solution nouvellement formée. Dans les 2 cas précédents les échantillons urinaires à doser sont systématiquement ré-analysés.

3) Analyse d'échantillons urinaires provenant de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes

1. Contexte et période d'étude

La méthode analytique de dosage de pénitrème A et roquefortine C a nécessité du temps dans sa mise en place, celle-ci était initialement prévue dès 2020 mais a été plus longue que prévue notamment en raison de la pandémie du COVID -19. Cette technique de dosage basée sur une LC-MS/MS a été opérationnelle début 2022, ainsi seuls des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes postérieurs à cette date ont donc pu faire l'objet de cette analyse. En tenant compte de la fin de l'étude prospective début Avril 2022, l'analyse des prélèvements urinaires n'a été possible que sur des suspicions d'intoxications canines ayant eu lieu entre mi-Janvier et fin Mars 2022. En pratique seules 2 analyses d'échantillons ont eu lieu à Toxlab au cours de cette étude : la première le 11 Mars 2022, et la seconde le 4 Avril 2022.

2. Origine des échantillons urinaires analysés

Les échantillons urinaires canins ayant été analysés dans cette étude avaient 2 origines. La majorité d'entre eux provenait de chiens intoxiqués et présentés chez un vétérinaire ayant contacté le CNITV. En effet cette étude analytique a été menée simultanément à l'étude prospective, présentée précédemment, de mi-Janvier à début Avril 2022. Ainsi dès la mi-Janvier 2022, lorsque des appels émanaient au CNITV pour des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes remplissant les critères d'inclusion de l'étude prospective, les vétérinaires étaient prévenus par les permanents du centre antipoison de la possibilité de réaliser gratuitement un dosage de ces mycotoxines dans l'urine des chiens intoxiqués. En pratique si un praticien acceptait de réaliser un prélèvement urinaire sur l'animal intoxiqué ayant motivé son appel au centre antipoison, Toxlab était prévenu directement via le CNITV ou par l'intermédiaire de l'auteur. Le vétérinaire en question recevait alors par mail une étiquette Chronopost® affranchie permettant l'envoi du colis contenant le prélèvement urinaire au laboratoire de toxicologie vétérinaire, qui prenait donc en compte les frais de transport des prélèvements biologiques.

La seconde origine des échantillons urinaires était les cas suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes reçus par le service d'urgence et de soins intensifs des animaux de compagnie du centre hospitalier vétérinaire de VetAgro Sup (le SIAMU). Cette structure ouverte 24 h sur 24 se trouvant également sur le campus vétérinaire de VetAgro Sup, de même que Toxlab, l'acheminement des prélèvements était donc possible très rapidement et ne nécessitait pas l'intermédiaire d'un transporteur, ceux-ci étant directement apportés au laboratoire par des étudiants vétérinaires.

3. Méthode de prélèvement, conditions de transport et de conservation des échantillons urinaires

Tous les échantillons urinaires prélevés et envoyés à Toxlab devaient être accompagnés d'une fiche d'accompagnement renseignant les modalités du prélèvement, celle-ci est présentée en Annexe 5. Plus précisément celle-ci renseigne : le nom et les coordonnées du vétérinaire et de sa clinique ou de son cabinet d'exercice, les noms du propriétaire et de l'animal, la race du chien, la date et l'heure du prélèvement ainsi que la méthode de réalisation de celle-ci.

La méthode de prélèvement de l'urine était libre pour les praticiens, celui-ci pouvait être réalisé par collecte de mictions naturelles, par sondage urétral ou par cystocentèse, cela n'influençant normalement pas la quantité de mycotoxines présente dans l'échantillon. Les mentions de la date et de l'heure prélèvement étaient très importantes. En effet en comparant celle-ci au moment de l'ingestion du toxique décrit dans la fiche V-Tox®, l'interprétation des résultats de l'analyse pouvait être modifiée en raison d'un délai plus ou moins long entre la supposée consommation des mycotoxines trémorigènes et la collecte des urines. L'urine collectée était mise dans des pots à prélèvements secs.

Les échantillons ainsi prélevés étaient conservés au réfrigérateur jusqu'à leur envoi. Leur transport était effectué sous couvert de froid. Une fois arrivés au laboratoire de toxicologie ceux-ci étaient congelés à une température de -20°C. Le procédé analytique n'étant pas réalisé quotidiennement ces échantillons pouvaient rester congelés jusqu'à une semaine avant analyse. Lors de la réalisation du protocole analytique de dosage du pénitrème A et de la roquefortine C, ces prélèvements biologiques étaient décongelés le jour même de l'analyse.

III) Résultats

A) Études rétrospectives

- 1) Résultats de l'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies

Dans cette partie les résultats présentés sont issus d'une analyse statistique descriptive de 186 appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 pour une forte suspicion d'intoxication canine aux noix moisies.

1. Caractéristiques des appels

a) Motifs d'appels et qualité des appelants

Sur les 186 appels recensés dans cette étude 94,6 % ont émané de vétérinaires praticiens, 3,8 % ont été émis par des particuliers, et 1,6 % provenaient d'écoles vétérinaires. Sur les 176 appels provenant de vétérinaires 10 ont été reçus par le CNITV avant la consultation de l'animal, c'est-à-dire lorsque les praticiens avaient été prévenus par téléphone d'une intoxication canine aux noix moisies mais n'avaient pas encore vu personnellement le chien en question. Ces résultats sont représentés sur la Figure 38 ci-dessous :

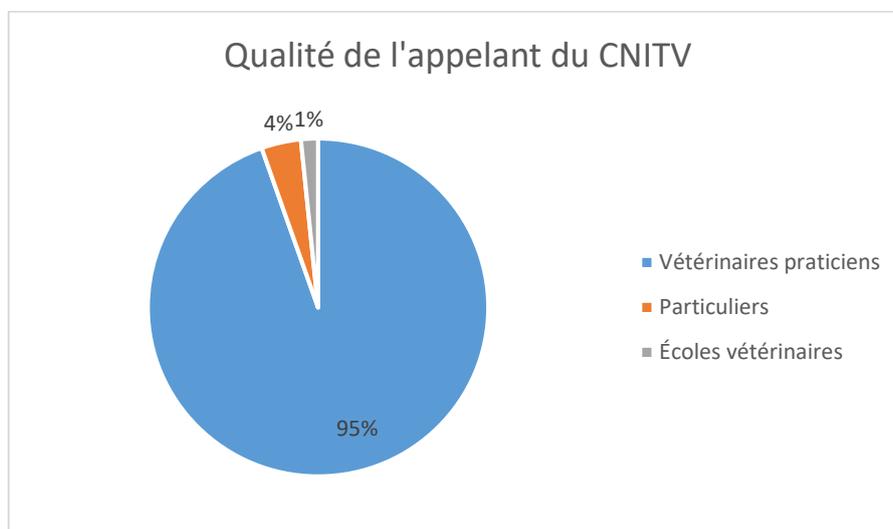


Figure 38 : Qualité des appelants du CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Les motifs des appels reçus par le CNITV (Figure 39) ont été des demandes d'aide à la mise en place d'un traitement adéquat pour l'animal intoxiqué dans 61,3 % des appels, des demandes d'aide au diagnostic dans 34,9 % des communications et des requêtes d'analyses dans 2,1 % des appels. Enfin 3 sollicitations téléphoniques ont encore eu lieu pour un autre motif non renseigné.

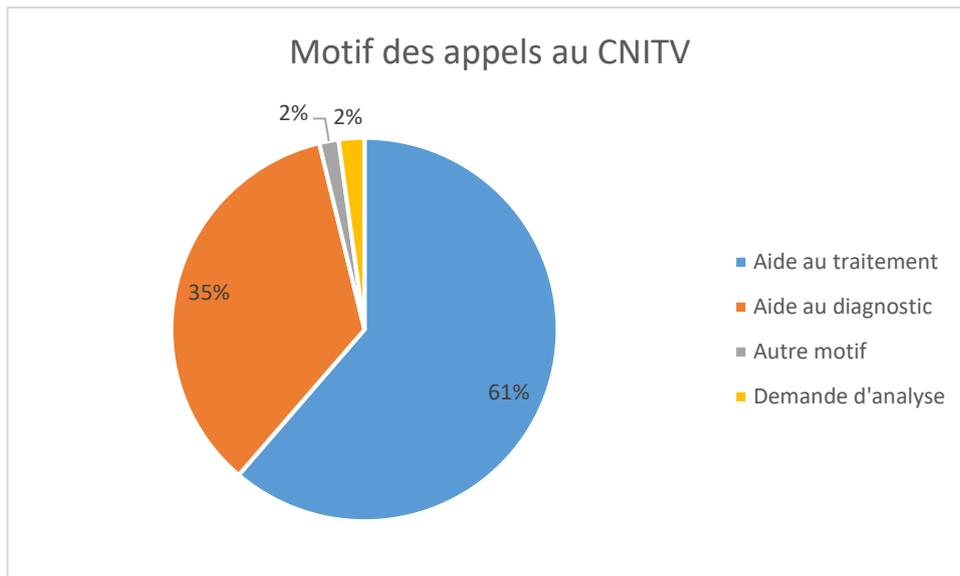


Figure 39 : Motifs des appels reçus par le CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

b) Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV

Lors d'un appel les chiens suspectés de souffrir d'intoxication étaient victimes de troubles, le délai s'étalant entre l'apparition du premier symptôme chez l'animal et l'appel au CNITV par un vétérinaire ou un particulier variait selon le cas. Dans cette étude lors de la sollicitation du CNITV ce délai était renseigné pour 172 des appels et de 1 à 12 h dans la grande majorité des cas : 61,3 % des appels. Cependant 6,5 % des suspicions rapportées au centre antipoison l'ont été moins d'une heure après l'apparition des troubles chez l'animal, 14 % dans un délai de 12 à 24 h et 8 % après une durée de 1 à 3 jours. Seuls 3 appels ont concerné des symptômes étant apparus 3 à 8 jours avant l'appel au CNITV. Enfin 1 appel a été émis pour des signes évoluant depuis 8 à 15j et 1 autre pour un délai d'évolution de ces troubles supérieur à 15 jours. Ces résultats sont présentés sur la Figure 40.

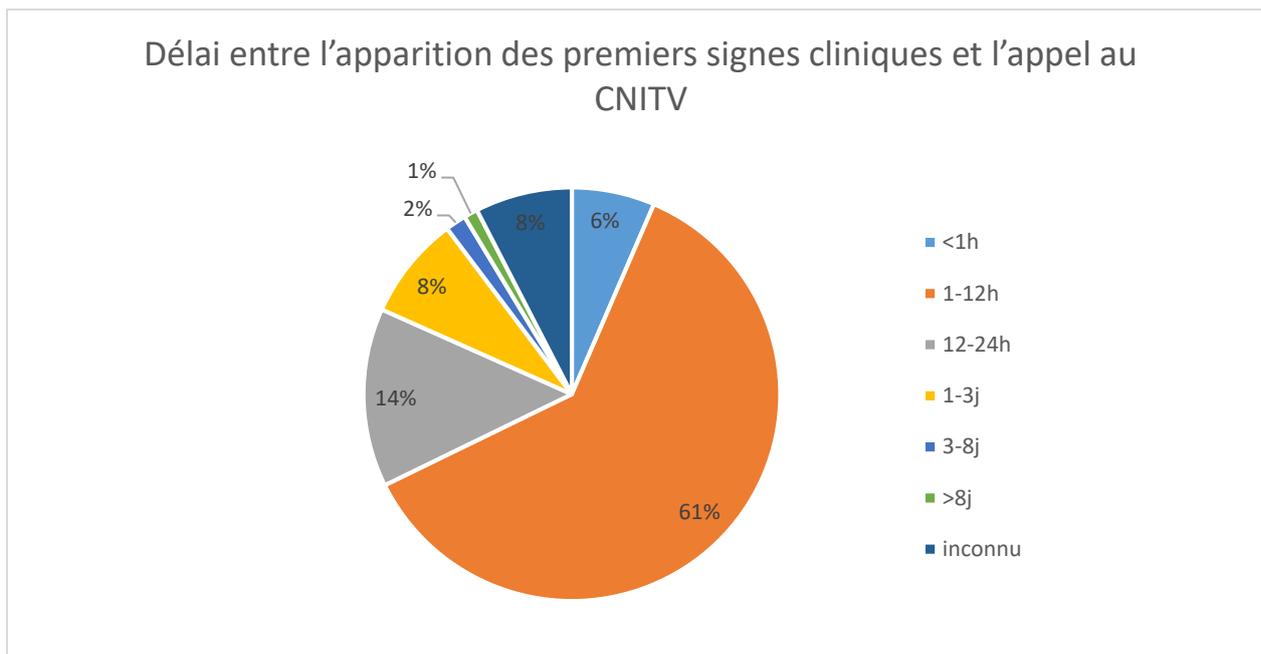


Figure 40 : Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques des chiens suspects d'intoxication aux noix moisies et l'appel au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

c) Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique

Les 186 appels analysés dans cette étude relaient la suspicion d'exposition aux noix moisies de 248 chiens : 87,1 % de ces appels concernaient une suspicion d'intoxication chez un seul animal. Les appels multiples n'ont concerné que 12,9 % (24/186) des appels, mais représentaient 34,7 % (86/248) des suspicions. Parmi ces derniers 15 appels ont été émis pour 2 animaux potentiellement exposés, 2 pour 3 chiens et 4 pour 5 chiens. Certaines communications téléphoniques ont rapporté de probables cas d'intoxication multiples concernant 7, 10 et jusqu'à 13 chiens.

2. Contexte d'exposition

a) Répartition annuelle et mensuelle des appels

Comme en témoignent la Figure 41 et le Tableau XVII ci-après, le nombre d'appels reçu chaque année au CNITV pour des suspicions d'intoxications de chiens aux noix moisies a été très variable. Sur la décennie étudiée, c'est en 2009 et 2010 que celui-ci a été le plus faible avec respectivement 2 et 1 suspicions. Au contraire c'est au cours des années 2012, 2015, 2018 et 2019 que ce centre antipoison a recensé le plus grand nombre d'appels pour des chiens ayant été exposés oralement à des noix moisies, avec plus de 25 appels. L'année 2019 a été de très loin celle durant laquelle le nombre de cas suspectés d'intoxications de chiens à ce toxique a été le plus important, le CNITV en a ainsi comptabilisé 55 soit 29,6 % des cas recensés sur la période d'étude de 11 ans. De plus de manière globale le nombre de suspicions recensées par le CNITV pour cette intoxication semble plus important depuis ces dernières années avec 72,6 % des appels postérieurs au 1^{er} Janvier 2015 et 43,5 % de ceux-ci uniquement passés entre 2018 et 2019. On note donc une tendance à l'augmentation des suspicions recueillies par le CNITV entre 2009 et 2019.

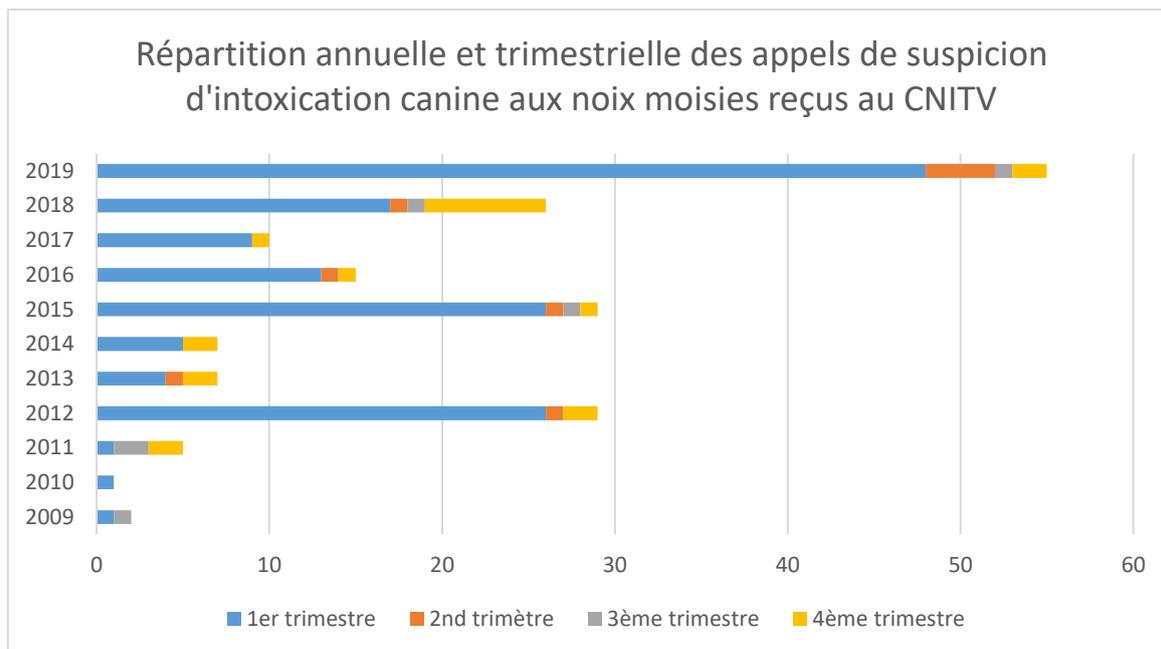


Figure 41 : Répartition annuelle et trimestrielle des appels de suspicion d'intoxication canine aux noix moisies reçus au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

La répartition mensuelle des appels pour une intoxication canine aux noix moisies a également été très inégale. En effet les communications ayant eu lieu au cours du 1^{er} trimestre des années civiles représentaient 81,2 % du nombre total des appels. Les 2nd et 3^{ème} trimestres annuels regroupaient le moins d'appels avec respectivement 4,8 % et 3,2 % des sollicitations du CNITV. Enfin les appels émis lors des mois d'Octobre, de Novembre et de Décembre regroupaient 10,8 % des appels.

À l'exception de 2 trimestres, le dernier de 2018 et le second de 2019, le CNITV n'a recensé aucune autre période de 3 mois avec plus de 2 appels concernant des chiens suspectés d'être intoxiqués aux noix moisies. De plus ces 2 périodes précédaient ou succédaient le premier trimestre 2019 qui a été de très loin le trimestre au cours duquel le nombre de ces suspicions a été le plus haut, avec 48 communications téléphoniques à ce sujet reçues au centre antipoison, soit plus d'un quart de tous les appels recensés dans cette étude. La saison hivernale s'étendant de Décembre 2018 à Avril 2019 a donc été la période où le CNITV a recensé le plus d'appels pour des cas d'intoxications canines aux noix moisies avec précisément 54 suspicions.

Il est à souligner que sur les 3 années regroupant le plus d'appels à savoir 2012, 2015 et 2019 la proportion des cas de suspicion ayant eu lieu au cours du premier trimestre est encore plus élevée par rapport à la moyenne calculée sur les 11 ans de la période d'étude, celle-ci est en effet de 89,7 % pour 2015 et 2012, et de 87,3 % pour 2019. La prédominance des cas d'intoxications canines, suspectés d'être liés à une consommation de noix moisies, rapportés au CNITV sur le 1^{er} trimestre semble donc encore plus importante au cours des années recensant un grand nombre de ces appels.

Tableau XVII : Effectif annuel et trimestriel des appels de suspicion d'intoxication canine aux noix moisies reçus au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

	Nombre d'appels	<i>1er trimestre</i>	<i>2nd trimestre</i>	<i>3ème trimestre</i>	<i>4ème trimestre</i>
2009	2	1	0	1	0
2010	1	1	0	0	0
2011	5	1	0	2	2
2012	29	26	1	0	2
2013	7	4	1	0	2
2014	7	5	0	0	2
2015	29	26	1	1	1
2016	15	13	1	0	1
2017	10	9	0	0	1
2018	26	17	1	1	7
2019	55	48	4	1	2

b) Répartition géographique des appels

La répartition géographique des lieux d'émission des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies est représentée sur la carte ci-dessous (Figure 42). De très grandes inégalités en termes de nombre d'appels émis sont visibles entre les différents départements et régions de France métropolitaine.

Tout d'abord certains territoires tels que la Bretagne, la Normandie, La Lorraine, la Champagne-Ardenne ou encore la Corse n'ont été à l'origine d'aucun appel au CNITV dans cette étude ; la Franche-Comté, le Poitou-Charentes et l'Auvergne n'ont été à l'origine que de quelques très rares sollicitations du CNITV.

Deux zones géographiques comprenant plusieurs départements semblent regrouper un grand nombre des appels de suspicion d'intoxication aux noix moisies recensés par le CNITV. La première se situe dans le Sud-Ouest avec en particulier les départements de la Gironde (11 appels), du Tarn et Garonne (14 appels), de la Haute-Garonne (9 appels), du Tarn (9 appels), la Dordogne (8 appels) et du Lot et Garonne (8 appels). Au total ces 6 départements regroupaient 59 appels soit 31,7 % d'entre eux.

La seconde zone à l'origine d'un nombre important d'appels regroupe des départements situés au nord et à l'ouest des Alpes : l'Isère (15 appels), l'Ain (8 appels), la Haute Savoie (7 appels), la Savoie (6 appels) et le Rhône (6 appels). Quarante-deux appels ont donc émané de ce territoire ce qui représentait 22,6 % de toutes les suspicions étudiées dans ce travail.

Enfin l'Indre et Loire (5 appels) et les Bouches-du-Rhône (6 appels) ont été à l'origine d'un nombre d'appels bien plus importants que leurs départements limitrophes. D'après la carte présentée ci-dessous, la moitié Sud de la France semble être à l'origine de bien plus d'appels au CNITV pour des suspicions d'intoxications de chiens aux noix moisis que la moitié nord du pays.

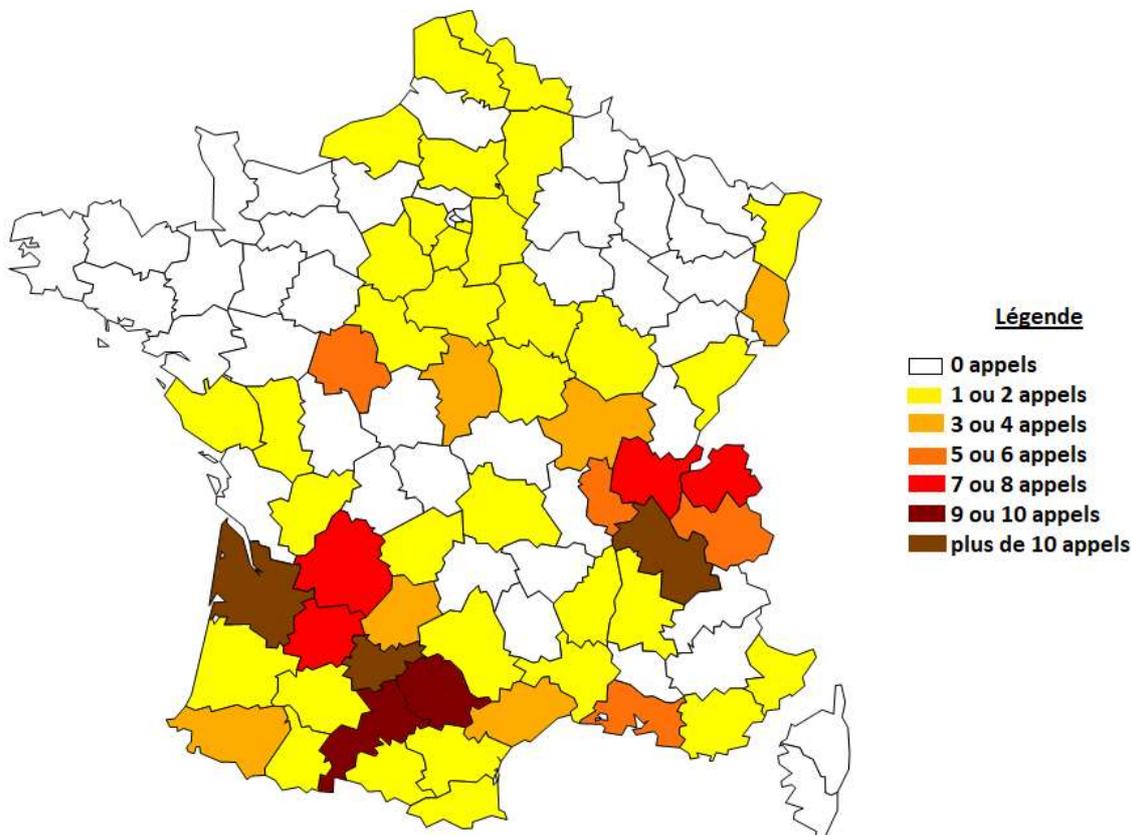


Figure 42 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisis entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

c) Lieux et circonstances des intoxications

Lors des appels concernant une suspicion d'intoxication aux noix moisis au CNITV, la majorité des chiens, 68,3 %, ont été suspectés d'avoir eu accès à ce toxique dans le jardin de leurs propriétaires et concernaient donc des consommations de fruits en décomposition tombés au sol. Venaient ensuite comme lieux d'intoxications les plus fréquents : la maison 14 % et les lieux de promenade 4,3 %. De plus aucun lieu d'intoxication n'a été suspecté par 21 appelants ce qui représentait 11,3 % des appels. Enfin des lieux anecdotiques d'intoxication tels que des bâtiments d'élevages ou des prés ont parfois été mentionnés. Ces résultats sont représentés sur la Figure 43.

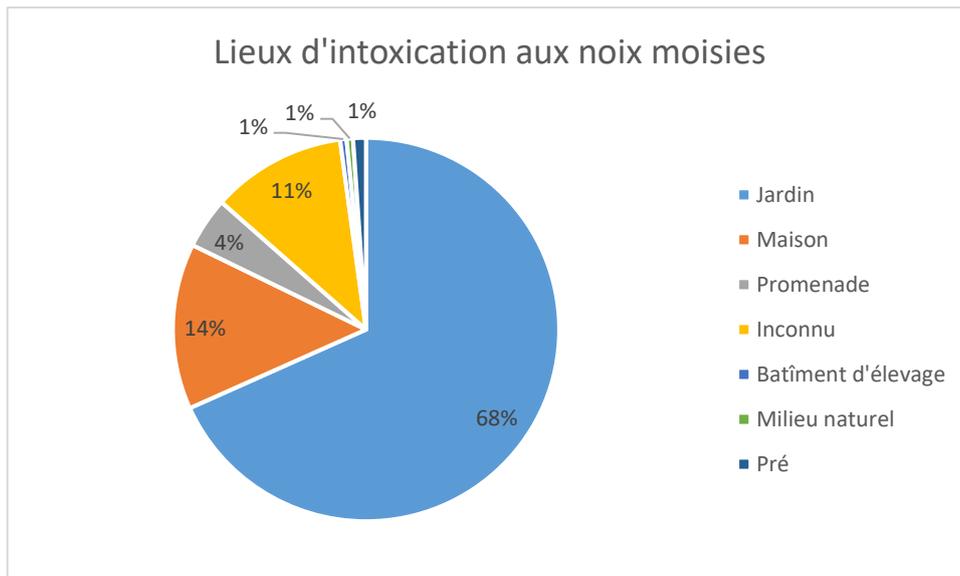


Figure 43 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Deux circonstances de consommation des noix moisies ont largement dominé dans les résultats de cette étude (Figure 44) : l'exposition accidentelle dans 57 % des appels et la présence du toxique dans l'environnement de l'animal dans 35 % des suspicions. Ce contexte restait cependant inconnu lors de 6,5 % des communications. Une seule administration volontaire de la part du propriétaire de noix moisies à son animal, et un seul contexte d'acte de malveillance avec volonté d'empoisonnement du chien par un tiers mal intentionné ont été recensés.

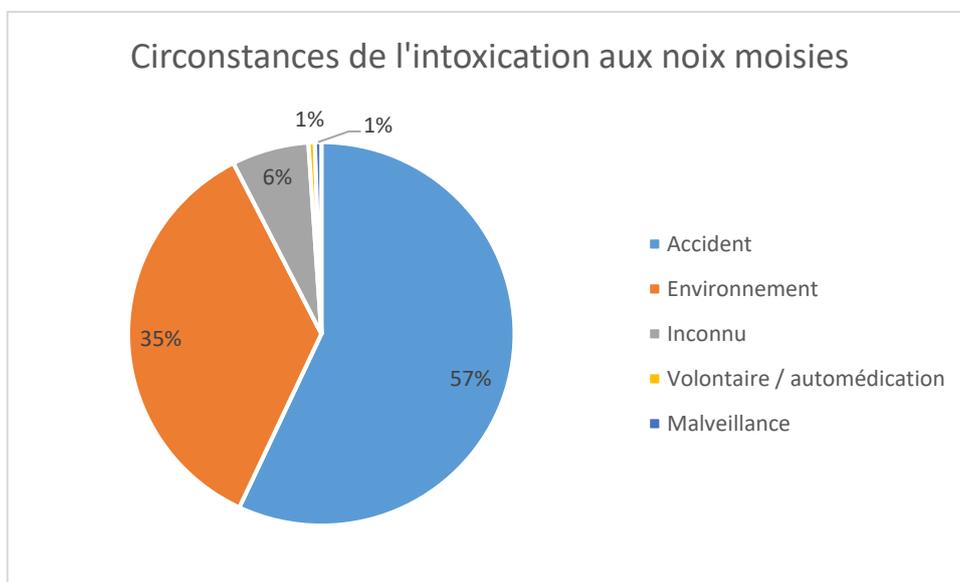


Figure 44 : Circonstances des intoxications canines supposées aux noix moisies lors des appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

3. Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication

a) Race et sexe des animaux

Race :

La race des chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux noix moisies était inconnue dans 40,3 % des fiches V-Tox®. Au total, 39 races canines différentes ont été recensées au cours des 186 appels reçus par le CNITV entre 2009 et 2019. Les effectifs des suspicions concernant chacune de celles-ci et des chiens signalés de race « croisée » sont présentés par ordre croissant dans le Tableau XVIII ci-dessous :

Race canine (nombre de suspicions d'intoxication aux noix moisies au CNITV entre 2009 et 2019)							
Labrador (10)	Croisée (9)	Bouvier Bernois (8)	Golden Retriever (8)	Jack Russel Terrier (8)	Épagneul Breton (7)	Yorkshire Terrier (6)	American Staffordshire Terrier (5)
Beagle (4)	Berger Australien (4)	Berger Belge Malinois (3)	Setter Anglais (3)	Beauceron (2)	Berger Allemand (2)	Bouledogue Français (2)	Cocker (2)
Pinscher (2)	Springer Spaniel (2)	West Highland white Terrier (2)	Bobtail (1)	Border Collie (1)	Caniche moyen (1)	Carlin (1)	Chihuahua (1)
Colley (1)	Coton de Tuléar (1)	Doberman (1)	Épagneul du Tibet (1)	Flat-Coated Retriever (1)	Fox Terrier à poils durs (1)	Husky Sibérien (1)	King Charles (cavalier) (1)
Pinscher moyen (1)	Rhodesian Ridgeback (1)	Setter Gordon (1)	Setter Irlandais (1)	Shetland (berger) (1)	Spitz nain (1)	Staffordshire Bull Terrier (1)	Whippet (lévrier) (1)

Tableau XVIII : Races des chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Comme le montre le tableau XVIII ci-dessus, 21 races canines n'étaient représentées que par un unique appel, et 7 races par seulement 2 sollicitations téléphoniques au CNITV. En revanche des chiens appartenant à une douzaine de races ont été suspectés d'être victime d'une intoxication aux noix moisies à 3 reprises ou plus sur la période d'étude.

Aucune surreprésentation nette d'une race en particulier n'a été observable dans cette étude, les races ayant généré le plus de suspicions ont en effet été à l'origine d'un nombre voisin de sollicitations entre 7 et 10. Parmi ces dernières la présence de deux races de Retrievers (Labrador et Golden) était cependant remarquable. Trois des 8 races les plus souvent à l'origine d'appels appartenaient également au grand groupe des terriers. Enfin il était également notable que parmi ces plus grands effectifs d'appels des chiens de tous gabarits étaient représentés : les bouviers Bernois étant considérés comme une race géante, les golden Retrievers et les Labradors Retrievers constituant des chiens de grande race, les chiens de gabarit moyen tels que l'American Staffordshire terrier ou l'épagneul Breton, les chiens de petite taille comme le Jack Russel terrier et même les très petites races comme le Yorkshire terrier.

Sexe : (Figure 45)

Le sexe des animaux suspects d'intoxication aux noix moisies était inconnu dans une grande très grande majorité des cas : 69,3 % des appels. Seules, 3,7 % des communications ont concerné plusieurs animaux comprenant à la fois des mâles et des femelles. Parmi les appels restants une très nette surreprésentation des femelles par rapport aux mâles, représentant respectivement 21,5 % et 5,4 % des suspicions, a été mise en évidence.

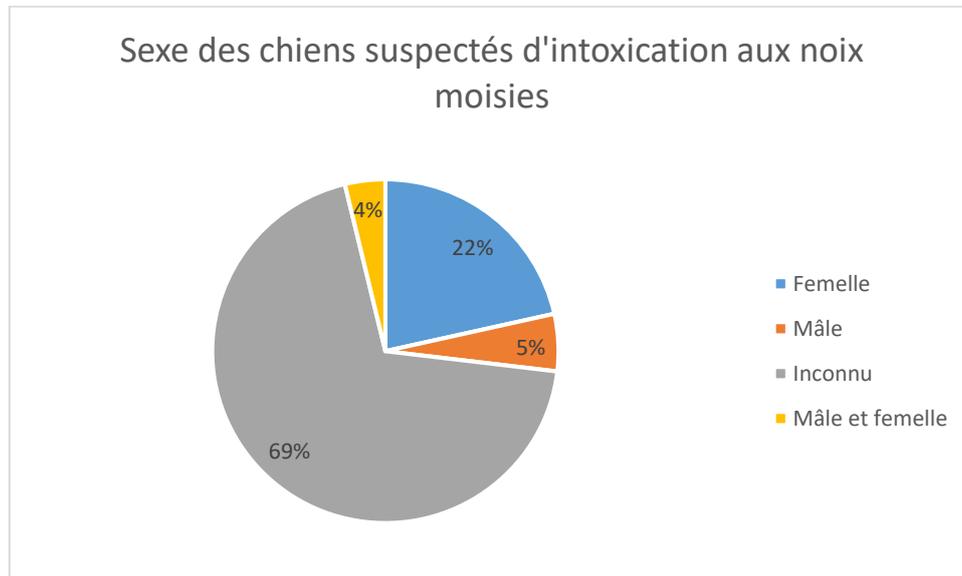


Figure 45 : Sexe des chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

b) Age et poids des animaux

L'âge :

L'âge des animaux suspectés d'être intoxiqués n'a malheureusement pas pu être extrait de la base de donnée V-Tox®, néanmoins l'observation visuelle des 186 fiches V-Tox® correspondantes a permis de montrer que près de 50 % d'entre elles mentionnaient un âge inconnu.

Poids :

Le poids des chiens intoxiqués était très variable, l'animal suspecté d'avoir consommé des noix moisies le plus léger pesait 2,2 kg et le plus lourd présentait un poids de 57 kg. Pour plus de la moitié des appels, 59,7 %, la masse des animaux intoxiqués était mentionnée comme inconnue dans V-Tox®. Le poids moyen des chiens suspectés d'intoxication des 75 autres appels était de 20,2 kg et leur poids médian de 18 kg.

c) État des animaux au moment de l'appel

Au moment de l'appel des vétérinaires ou des particuliers au centre antipoison, l'état d'atteinte des chiens était variable. Sur les 248 animaux suspectés d'avoir été exposés à des noix moisies, 243

présentaient au moins un signe clinique au moment de l'appel au CNITV, 98 % des chiens étaient donc atteints lors de la sollicitation du CNITV.

4 animaux étaient déjà morts lorsque le CNITV a été contacté et 2 d'entre eux étaient issus d'une intoxication multiple au cours d'un même appel. Au contraire 65 chiens étaient déjà guéris lorsque leurs propriétaires ou le vétérinaire consulté ont appelé le centre antipoison.

Enfin les permanents du CNITV étaient amenés à juger de la gravité des symptômes décrits au cours des appels reçus (Figure 46). Dans les suspicions concernant plusieurs animaux cette mention devait concerner l'individu le plus gravement atteint. Concernant les appels analysés dans cette étude : 61,3 % d'atteintes modérées et 36 % d'atteintes sévères ont été recensées. Seuls 2 cas avec symptômes bénins et 1 absence de symptômes ont encore été rapportés.

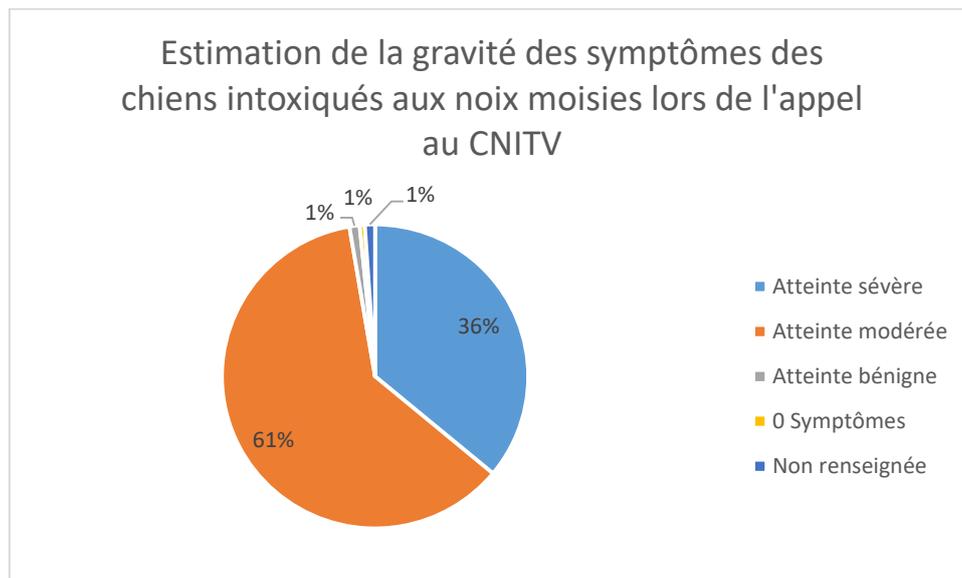


Figure 46 : Gravité des symptômes chez les chiens suspectés d'intoxication aux noix moisis lors d'appels au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

4. Toxiques suspectés

a) Nature et dose du substrat ingéré

Tous les appels recensés dans ce travail rétrospectif concernaient des suspicions de consommation de noix moisis par des chiens. La dose de fruits en décomposition ingérée était inconnue pour 41,9 % des sollicitations du CNITV. Lorsqu'une précision sur celle-ci était mentionnée, il s'agissait en général :

-soit d'une précision qualitative telle que « noix moisis », « noix en décomposition », « brous », « noix noirâtres », « noix avec coquilles », « noix au sol », « noix pourries », « sous le noyer »... Ces indications n'étaient pas d'un grand intérêt dans notre analyse, ainsi en raison de l'absence de toxicité des noix non altérées, les fruits consommés par les animaux présentant des troubles étaient forcément moisis si aucune autre étiologie ne pouvait expliquer les symptômes.

-Soit d'une indication quantitative : « X noix », « 1 poignée de noix », « beaucoup », « quelques », « plusieurs », « X g de noix »... Pour 5 appels la dose « 1 noix » était mentionnée, il s'agissait en général de cas où le propriétaire était à proximité de l'animal lors de la consommation et l'a empêché d'en consommer davantage. Mis à part ces 5 suspicions la dose de noix ou de brous

ingérée n'était donc quasiment jamais connue avec précision, les indications renseignées comme dose ont ainsi été très approximatives et uniquement indicatrices d'une quantité de substrat alimentaire dont l'ingestion est difficilement quantifiable.

b) Imputation du toxique

Les appels sélectionnés dans cette étude ont fait l'objet d'une correction préalable par les membres du CNITV, afin que les toxiques « Noyers » et « Mycotoxines NP » soient mentionnés sur les fiches V-Tox® relatant une intoxication aux noix moisisées. L'analyse de l'imputabilité de l'intoxication aux noix moisisées décrite ici a seulement été réalisée sur le toxique « Mycotoxine NP ».

Dans 41,4 % des appels la probabilité d'intoxication de l'animal aux noix moisisées a été jugée « certaine ». Celle-ci a effectivement été plus souvent jugée « probable » : 57 % des communications. Pour seulement 3 appels celle dernière a été renseignée comme « peu probable », mais l'imputation du toxique « Noyer » était alors probable ou certaine.

Bien que toutes les suspicions incluses dans cette étude aient été au moins probables et ne concernaient donc que de fortes suspicions d'exposition à des noix moisisées, ces résultats témoignent de l'absence de méthode de diagnostic de certitude en clinique.

c) Diagnostic différentiel

Dans une très grande proportion d'appels, 88,2 %, les noix moisisées étaient le seul toxique suspecté (avec mention des toxiques « Mycotoxines NP » et « Noyer »). Ainsi au cours de 22 suspicions, au moins un autre toxique faisait partie du diagnostic différentiel de l'appelant ou du permanent du CNITV. Ces derniers sont mentionnés dans le Tableau XIX ci-dessous :

Tableau XIX : Toxiques présents dans les diagnostics différentiels des suspicions d'intoxications canines aux noix moisisées recensées par le CNITV entre 2009 et 2019

Toxiques également suspectés lors de suspicions d'intoxication aux noix moisisées			
Champignons NP	Cannabis	Mollusques	Inhibiteur de cholinestérase
Soufre	Engrais NPK	Marronnier	Chocolat
Glyphosate	Convulsivant NP	Schefflera	Noisetier
Strychnine	Diféthialone	Huile alimentaire	Déodorant
Laurier rose	Thuya		

Tous ces toxiques n'ont été mentionnés qu'à une seule reprise à l'exception des inhibiteurs de cholinestérase et des convulsivants NP (non précisé) présents dans respectivement 3 et 2 diagnostics différentiels. Et seulement 4 (convulsivant NP, engrais NPK (azote, phosphore, potassium), Strychnine, Thuya) et 1 (laurier rose) d'entre eux étaient dotés respectivement d'une imputation probable ou certaine, dans 17 de ces 22 cas les noix moisisées étaient donc l'hypothèse diagnostique toxique principale.

Les noix moisies ont donc, dans cette étude, très souvent été suspectées comme les seules responsables des symptômes des animaux pouvant y avoir été exposés. Quand d'autres toxiques ont été mentionnés dans les hypothèses diagnostiques des vétérinaires, ceux-ci étaient très variés : espèces végétales diverses, aliments, engrais, produits cosmétiques, drogues, rodenticides, convulsivants, inhibiteurs de cholinestérase...

d) Origine de la suspicion du toxique

Sur les 186 suspicions de responsabilité des noix moisies dans l'atteinte d'un chien suite à leur probable ou certaine consommation, seules 10 d'entre elles soit 5,4 % ont été émises, à l'origine, par le membre du CNITV ayant répondu à l'appel en question. Près de 95% des appelants avaient ainsi d'ores et déjà pensé ou évoqué la possibilité d'implication de ce toxique dans les troubles présentés par les animaux ayant motivé l'appel en centre antipoison.

5. Symptomatologie

a) Délai d'apparition des symptômes

Le délai d'apparition des symptômes correspond au temps s'écoulant entre l'exposition aux noix moisies du chien suspect d'intoxication et l'apparition du premier symptôme. La Figure 47 ci-dessous, présente les délais observés dans notre étude. Celui-ci était inconnu pour 22,6 % des appels, en raison de l'absence de connaissance du moment de consommation du toxique ou de l'apparition des signes cliniques chez l'animal. Si pour la très grande majorité des cas, 65,1 % cette durée se situait dans un intervalle de temps de 1 à 12 h après la consommation suspectée de noix moisies, pour 9,7 % des cas les premiers troubles présentés par les animaux se sont déclarés moins d'une heure après l'exposition au toxique. Enfin seuls 4 appels (soit 2,2 % des suspicions) ont fait mention d'un délai d'apparition des signes cliniques d'une durée entre 12 et 24 h. Aucune mention d'une apparition de symptômes plus de 24 h après la consommation probable ou certaine de noix moisies par un chien n'a donc été rapportée sur une période d'étude de 11 ans au CNITV.

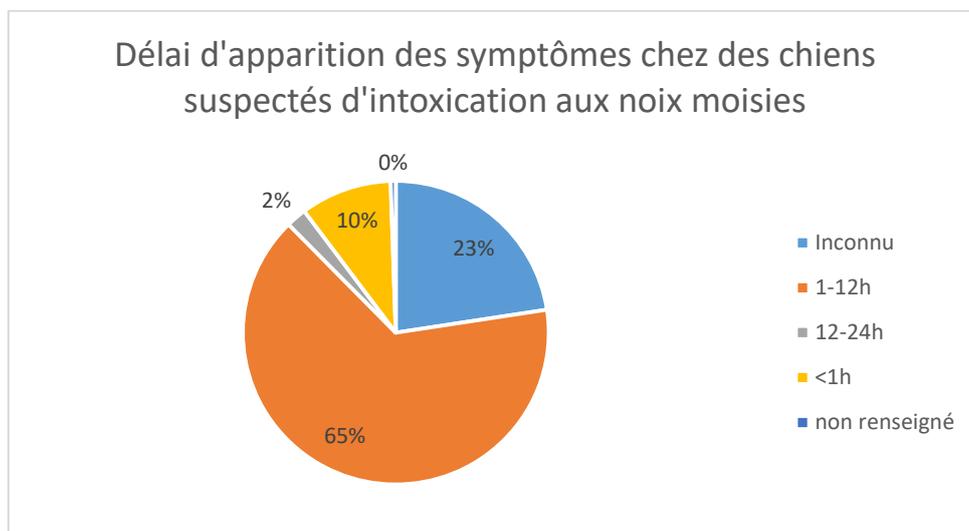


Figure 47 : Délai d'apparition des symptômes lors de suspicions d'intoxications canines aux noix moisies rapportées au CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

b) Symptômes neuro-musculaires

Pour qu'une sollicitation téléphonique du CNITV soit incluse dans cette étude au moins 1 chien devait être symptomatique lors de l'appel. Lors de 97,8 % des appels au moins un chien présentait un symptôme neuro-musculaire, les fréquences des différents signes cliniques regroupés dans cette catégorie sont présentées dans le Tableau XX suivant :

Tableau XX : Fréquence des troubles neuro-musculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisisées entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Étude	Étude rétrospective (2009-2019)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Nombre de cas démontrés, de suspicions, ou d'appels	186 appels	76 appels	69 suspicions d'intoxication	29 cas démontrés d'intoxications
Présence de signes neuro-musculaires	97,8 %	100 %	93 %	100 %
Trémulations musculaires	67,2 %	77,6 %	63,8 %	89,7 %
Convulsions	41,9 %	30,3 %	33,3 %	70 %
Ataxie	26,9 %	30,3 %	27,5 %	58,6 %
Hyperesthésie	7 %	Absence de données	15,9 %	34,5 %
Hyper sensibilité au bruit	Absence de données	Absence de données	Absence de données	17,2 %
Nystagmus	1,6 %	Absence de données	5,8 %	20,7 %
Opisthotonos	1,6 %	Absence de données	2,9 %	17,2 %
Coma	1,6 %	Absence de données	4,3 %	6,9 %
Parésie	1,6 %	Absence de données	Absence de données	Absence de données
Hypertonie localisée	1,1 %	Absence de données	Absence de données	Absence de données

Les signes neuro-musculaires ont de très loin été les plus fréquents chez les chiens suspectés d'intoxication dans cette étude, seuls 4 animaux n'en présentaient pas lors de l'appel au CNITV. Parmi ces troubles, les trémulations musculaires ont été les symptômes les plus fréquents avec 67,2 % des

appels concernés, ils étaient le plus souvent généralisés car ils concernaient la tête, les membres et le tronc des animaux mais pouvaient également parfois ne concerner qu'une seule de ces parties du corps. En deuxième position sont retrouvées les convulsions, présentes dans 41,9 % des suspicions d'intoxication. La précision de la nature des convulsions a été très rare, ainsi seuls 2 appelants ont mentionné des convulsions cloniques, 2 autres des convulsions toniques et 1 seul a signalé la présence alternée de ces 2 types de crises convulsives.

Le troisième trouble nerveux le plus souvent visible chez les chiens victimes de cette intoxication, a été la présence d'une ataxie, celle-ci pouvait être d'intensité variable allant d'un léger trouble de l'équilibre jusqu'à une quasi incapacité à se tenir debout pour les animaux. Plus d'un quart des appelants (26,9 %) en ont fait part au centre antipoison dans cette étude. Il est à préciser que ces données sont collectées au moment de la sollicitation téléphonique du CNITV, elles ne tiennent donc souvent pas compte de l'ataxie résiduelle fréquemment rencontrée quelques heures ou jours après l'intoxication.

De l'hyperesthésie a été rapportée lors de 7 % des sollicitations mais aucune précision n'a été apportée à cette mention dans les fiche V-Tox®. Ainsi il pouvait aussi bien s'agir d'hypersensibilité au bruit, qu'à la lumière ou au toucher.

Enfin le rapport d'un nystagmus, d'une parésie, d'une position d'opisthotonos ou d'un état comateux lors des appels au CNITV a été observé à 3 reprises pour chacun de ces 4 symptômes, ce qui représentait à chaque fois 1,6 % des appels, ces signes restaient donc rares, de même que l'hypertonie localisée sans plus de précision rapportée dans 2 suspicions seulement.

c) Symptômes digestifs

Le second groupe de symptômes le plus fréquemment rapporté lors des appels étudiés dans cette étude était celui des troubles digestifs. Ceux-ci étaient présents dans 46,8 % des appels. Les vomissements spontanés étaient de très loin le plus fréquent de ces signes avec 37,1 % des communications téléphoniques les mentionnant. De l'hypersalivation a été recensée dans 17,2 % des appels, celle-ci a donc été plus de 2 fois moins fréquemment citée que les vomissements. De plus de la diarrhée a été évoquée par 7 appelants soit seulement 3,8 % de ceux-ci, ce qui en fait un trouble très rare. Enfin un seul appelant a mentionné un symptôme de méléna lorsqu'il a contacté le centre antipoison. Les fréquences de ces troubles digestifs sont présentées dans le Tableau XXI ci-dessous :

Tableau XXI : Fréquence des troubles digestifs lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisis entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Étude	Étude rétrospective (2009-2019)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Présence de signes digestifs	46,8 %	53,9 %	67 %	55,2 %
Vomissements	37,1 %	44,7 %	50,7 %	44 %
Hypersalivation	17,2 %	21,1 %	11,6 %	13 %
Diarrhée	3.8 %	Absence de données	7,2 %	3,4 %

d) Symptômes généraux

Les symptômes classés comme généraux dans cette étude regroupaient les troubles de l'état général de l'animal, de sa température corporelle, de son système cardiovasculaire et de son système respiratoire. Les fréquences de ces derniers sont présentées dans le Tableau XXII.

Tableau XXII : Fréquence des altérations de l'état général lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisis entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Étude	Étude rétrospective (2009-2019)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas bibliographiques
Abattement, prostration, décubitus latéral	11,3 %	Absence de données	15,9 % (abattement et léthargie) 4,3 % (décubitus latéral)	20,7 %
Hyperthermie	10,8 %	9,2 %	15,9 %	34,5 %
Hypothermie	0,5 %	Absence de données	5,8 %	13,8 %
Troubles cardio-vasculaires	3,8 %	5,2 %	Absence de données	34,5 %
Tachycardie	2,7 %	2,6 %	1,4 %	31 %
Bradycardie	0,5 %	1,3 %	Absence de données	3,4 %
Hypotension	0,5 %	1,3 %	Absence de données	6,9 %
Congestion des muqueuses	0,5 %	Absence de données	Absence de données	6,9 %
Troubles respiratoires	1,1 %	Absence de données	Absence de données	41,4 %
Tachypnée/polypnée, halètement	0,5 %	Absence de données	Absence de données	31 %
Détresse respiratoire, apnées, hypoventilation	0 %	Absence de données	Absence de données	10,4 %

Des signes d'abattement ou de fatigue ont été rapportés à de rares occasions, ainsi légèrement moins de 10 % des appels mentionnaient une prostration chez les chiens suspectés d'intoxication. Un décubitus latéral signe d'un intense épuisement n'a été rapporté que lors de 3 sollicitations du CNITV, soit pour 1,6 % des appels.

Des altérations de la température corporelle des animaux suspects d'intoxication ont également rarement été mentionnées par les appelants au CNITV. De l'hyperthermie a été rapportée comme symptôme dans 10,8 % des appels et une valeur chiffrée a été précisée dans 11 de ces derniers avec les valeurs suivantes : [39°C ; 39,2°C ; 39,5°C ; 39,6°C ; 39,8°C ; 40,5°C ; 41°C ; 42°C ; 43°C ; 43°C ; 43,5°C]. L'hypothermie est, elle, restée extrêmement rare avec un seul appel la mentionnant suite à un épisode initial d'hyperthermie à 39°C.

Les troubles cardio-vasculaires ont été anecdotiques dans cette étude. En effet seuls 3,8 % des appels ont mentionné une altération de ce système, qui consistait en une tachycardie pour 5 des animaux concernés. Les 2 dernières altérations de l'appareil cardiaque et du système artériel répertoriées étaient respectivement constituées d'une bradycardie et d'une hypotension. Enfin une congestion des muqueuses concernant donc le système circulatoire périphérique a également fait partie de la description d'un appelant.

Des troubles respiratoires mineurs n'ont été rapportés que lors de 2 appels, 1 mentionnait la présence d'une polypnée et l'autre celle d'un râle bronchique chez le chien concerné. Les atteintes de l'appareil respiratoire ont donc été extrêmement rarement présentes ou mentionnées lors des appels. Aucune atteinte grave de ce système telle qu'une détresse respiratoire ou une apnée n'a été retrouvée dans les fiches V-Tox[®] analysées lors de cette étude.

e) Modifications comportementales

Des modifications du comportement des chiens suspectés d'intoxication aux noix moisies ont été référencées comme symptôme dans 5,4 % des appels. Seules 1,1 % des communications ont ainsi fait mention d'une augmentation inhabituelle de l'agressivité de l'animal. L'augmentation anormale de l'état d'agitation des chiens exposés à des noix moisies a elle été 4 fois plus rapportée car elle a été signalée par 4,3 % des appelants. Ces altérations du comportement de l'animal ont donc très rarement été mentionnées lors des appels au CNITV pour ce type d'intoxication.

f) Autres symptômes

Les autres symptômes que ceux classés dans les groupes précédemment présentés ont essentiellement été oculaires (Tableau XXIII). En effet bien que relativement rare car présente chez seulement un peu plus d'un chien sur 10, une mydriase a tout de même été mentionnée comme symptôme dans 12,4 % des appels. La présence d'un myosis a, elle, été très anecdotique avec seulement 2 mentions par des appelants. De plus la seule cécité rapportée a été observée sur un animal présentant également une mydriase.

Tableau XXIII : Fréquence des symptômes oculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

Étude	Étude rétrospective (2009-2019)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas bibliographiques
Signes oculaires	13,5 %	Absence de données	8,7 %	13,7 %
Mydriase	12,4 %	Absence de données	8,7 %	10,3 %
Myosis	1,1 %	Absence de données	Absence de données	3,4 %
Cécité	0,5 %	Absence de données	Absence de données	Absence de données

Enfin bien qu'on ne puisse pas parler de symptômes au sens premier du terme, des altérations biochimiques, de la numération formule et de l'ionogramme des animaux ont aussi été très rarement mentionnées dans la description des cas d'intoxication. Précisément 1 augmentation des ALAT, une augmentation des ASAT, une hyperkaliémie et une hypoprotéinémie ont été rapportées chez 1 chien, et une neutrophilie et une augmentation des PAL ont, elles, été signalées chez deux autres animaux. Ces modifications biologiques ont donc exceptionnellement été rapportées au CNITV. Dernièrement une unique polydipsie et un seul état de faiblesse sans plus de précision ont encore été recensés comme des symptômes dans ce travail rétrospectif.

6. Traitement et évolution

a) Traitement

En fonction des traitements potentiellement déjà mis en place par les vétérinaires lors de leur appel, les conseils du CNITV pouvaient varier (conforter, compléter, conseiller, corriger le traitement...) (Figure 48). Le plus fréquemment, dans 48,4 % des appels, le traitement a été totalement conseillé par le membre du CNITV, dans la majorité de ces cas aucune ou de très faibles mesures thérapeutiques avaient été mises en place par les vétérinaires au moment de l'appel. Le traitement mis en place par les appelants a été conforté dans 25,3 % des appels et complété pour 16,1 % d'entre eux. Enfin aucun traitement n'a été préconisé dans 9,1 % des cas. Les réponses du CNITV ont donc influé fortement dans le traitement de 64,5 % des suspicions d'intoxications canines aux noix moisies dans cette étude. Et légèrement plus de 25 % des praticiens avaient déjà instauré un traitement adéquat pour prévenir ou estomper les effets du toxique.

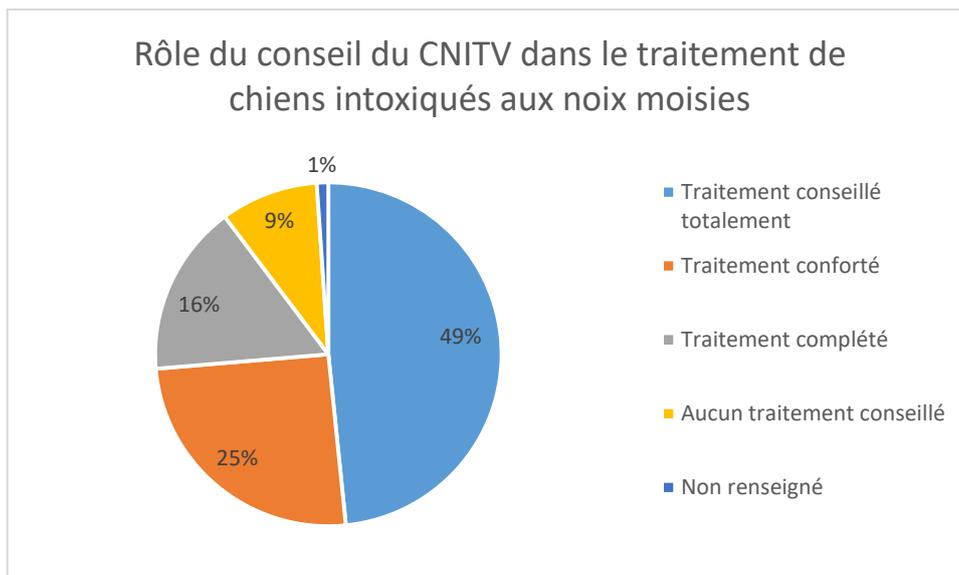


Figure 48 : Rôle de la réponse du CNITV dans le traitement administré aux chiens suspects d'être victimes d'une intoxication aux noix moisies entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

b) Évolution

L'évolution des animaux après l'appel initial au CNITV n'était connue pour aucun des animaux dans cette étude rétrospective, en effet aucun appelant n'a été recontacté pour connaître le déroulement de la phase de l'intoxication postérieure au contact du centre antipoison. Comme en témoigne la Figure 49, l'évolution du cas a donc été sans surprise renseignée comme inconnue par les permanents du CNITV dans une très grande majorité des cas : 84,4 %. Dans 12,9 % des sollicitations du centre antipoison l'évolution des animaux a été jugée favorable, ceux-ci correspondaient à une grande partie des 65 animaux déjà guéris lors de l'appel du CNITV qui représentaient en tout 26 appels. Enfin 3 fiches V-Tox® mentionnaient une évolution non favorable de l'intoxication, celle-ci correspondaient aux 4 animaux déjà morts lorsque l'appel au CNITV a été passé.

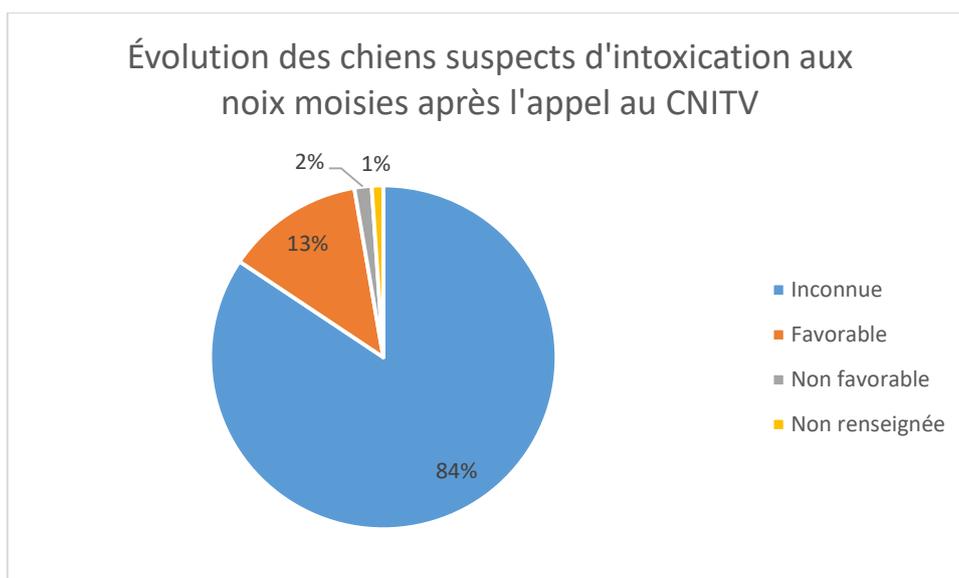


Figure 49 : Évolution des chiens suspects d'être victimes d'une intoxication aux noix moisies après l'appel reçu par le CNITV entre 2009 et 2019 (n=186 appels)

2) Résultats de l'étude rétrospective des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines tremorigènes

1. Caractéristiques des appels

a) Motifs d'appels et qualité des appelants

Sur les 77 appels inclus dans cette étude, 76 ont été émis par des praticiens vétérinaires et un seul par un propriétaire, mais 100 % des personnes ayant répondu au questionnaire téléphonique lors des rappels étaient des vétérinaires.

Les motifs des appels reçus par le CNITV pour des intoxications aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 ont été de 2 types (Figure 50) : 83 % des appels ont été émis afin d'obtenir des conseils dans la mise en place du traitement pour l'animal suspect d'intoxication, et 17 % dans le but de recevoir une aide de la part du centre antipoison pour établir un diagnostic.

Enfin sur les 76 vétérinaires ayant contacté le CNITV pour un chien suspecté d'avoir été exposé à des mycotoxines trémorigènes, 4 (soit 5 % d'entre eux) l'ont fait avant même d'avoir vu l'animal.

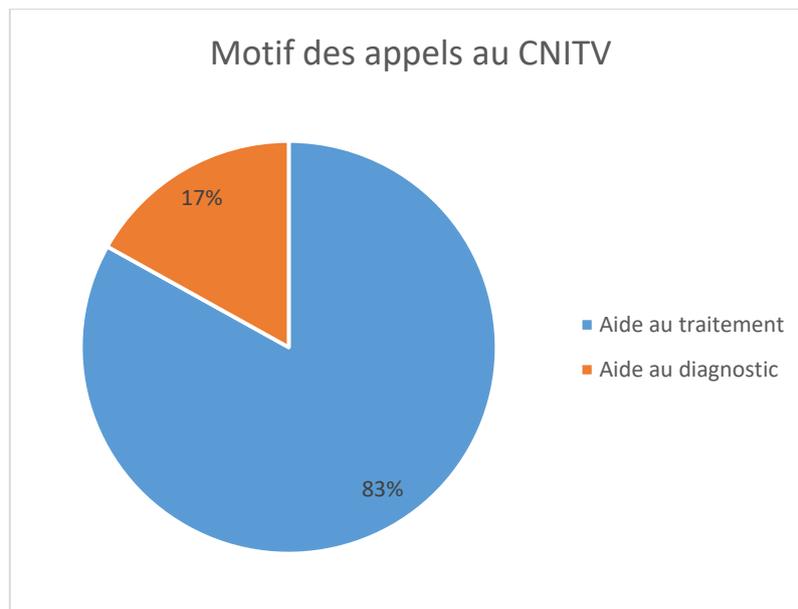


Figure 50 : Motifs des appels reçus par le CNITV lors d'une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

b) Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV

Le délai entre l'apparition du premier signe clinique chez l'animal atteint et l'appel au centre antipoison était de 1 à 12 h dans une grande majorité des cas : 62 %. Celui-ci a par contre duré moins d'une heure ou de 12 à 24 h pour à chaque fois 12 % des suspicions. Trois appelants ont également fait mention d'une durée de 1 à 3 jours entre l'apparition du premier symptôme chez le chien et l'appel au centre antipoison. Des délais de 3 à 8 jours, et de 8 à 15 jours ont aussi été rapportés au cours de cette étude

mais à une seule reprise. Enfin l'absence de connaissance du moment exact d'apparition du premier trouble chez l'animal a entraîné l'impossibilité de la détermination de ce délai dans 8 % des appels.

Dans les cas suspectés de consommation de substrats potentiellement sources de mycotoxines trémorigènes où le CNITV a été contacté, celui-ci a donc en très grande majorité été consulté relativement rapidement après l'exposition au toxique : en moins de 12 h pour 74 % des cas, et en moins d'un jour pour 86 % de ceux-ci. Ces résultats sont représentés sur la Figure 51 ci-dessous :

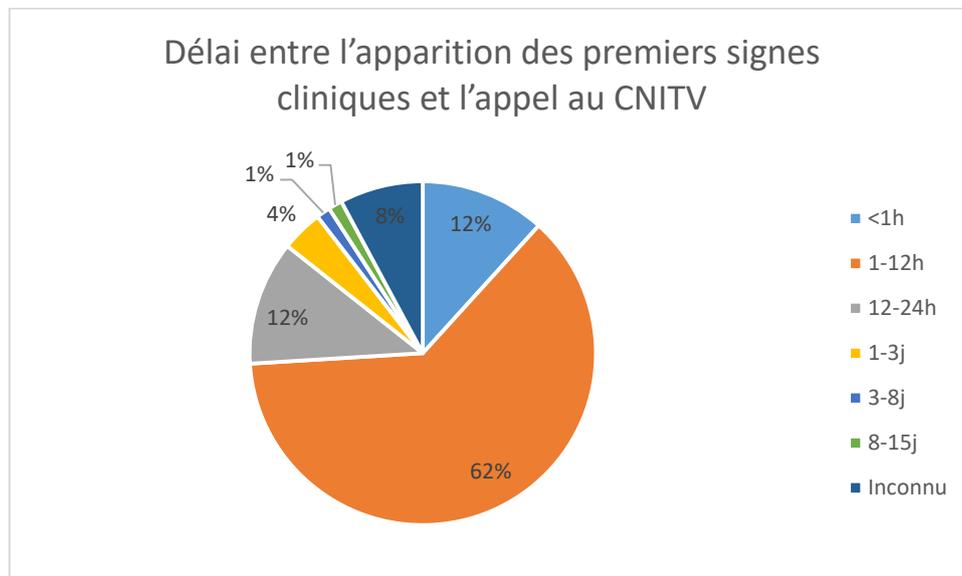


Figure 51 : Délai entre l'apparition des signes cliniques des chiens suspects d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes et l'appel au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

c) Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique

Au cours de 77 appels recensés dans ce travail rétrospectif, 84 chiens ont été suspectés d'avoir été intoxiqués par des mycotoxines trémorigènes. Les appels concernant un unique animal représentaient 94 % de l'ensemble des sollicitations du CNITV. Les communications téléphoniques faisant référence à des suspicions de contaminations multiples de mycotoxines ont représenté 7 % des appels, et 14 % des chiens atteints. Parmi ces suspicions d'intoxications communes à plusieurs chiens, 4 ont concerné 2 animaux et 1 relatait la possible exposition de 4 chiens à la substance toxique suspectée.

2. Contexte d'exposition

Dans toute cette partie les résultats seront premièrement présentés pour l'ensemble des appels, puis une distinction de ces derniers en fonction de la nature du substrat toxique ingéré sera réalisée. Sur les 77 appels étudiés dans ce travail, le substrat alimentaire suspecté d'être responsable de l'intoxication était des noix moisies dans 65 % (50/77) des appels, du compost dans 10 % (8/77) d'entre eux, un aliment moisi ou le contenu de poubelles pour 10 % (8/77) de ces mêmes appels, du bois ou des végétaux moisies dans 4 % (3/77) de ceux-ci et dernièrement il n'était pas connu dans 10 % (8/77) de ces suspicions.

a) Répartition mensuelle des appels

Les 3 appels ayant eu lieu fin Février 2021 n'ont pas été pris en compte dans cette partie, car tous les cas de suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ayant entraîné une sollicitation du CNITV lors de ce mois-ci n'ont pas été recensés dans cette étude. Ainsi l'analyse mensuelle, présentée Figure 52, a porté sur 74 des 77 appels de cette étude. Le nombre d'appels reçus chaque mois de Mars 2021 à Mars 2022 par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes sont représentés sur l'histogramme suivant :

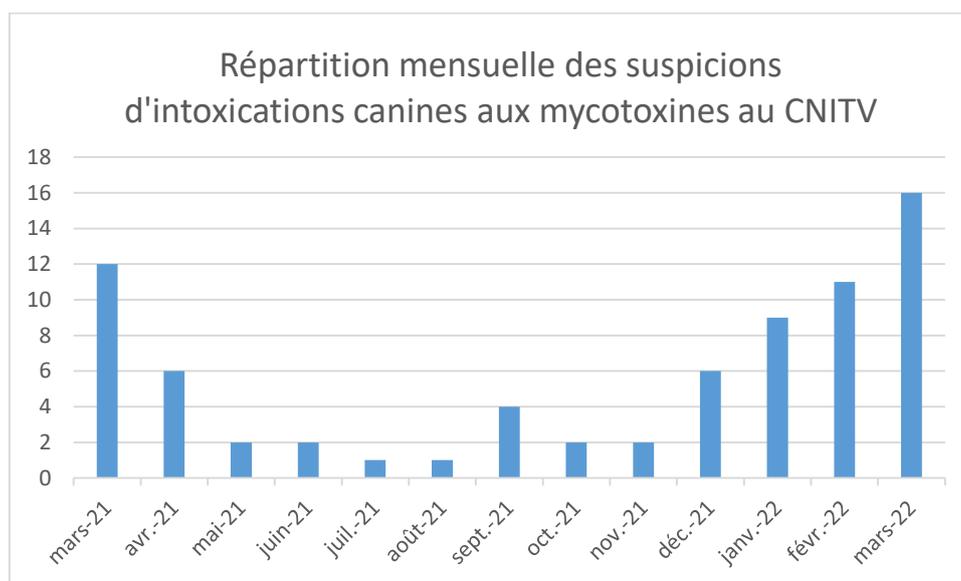


Figure 52 : Répartition mensuelle des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 (n=74 appels)

Comme le montre la Figure 52, les mois se trouvant entre Mai et Novembre 2021 ont été ceux durant lesquels le CNITV a reçu le moins d'appel pour une suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Au maximum 4 appels ont été reçus durant un de ces mois et à l'exception du mois de Septembre 2021, cette valeur tombe même à 2 sollicitations téléphoniques du centre antipoison par mois. Ces 7 mois réunis englobant globalement la période estivale et automnale de l'année 2021, soit plus de la moitié de la durée d'étude, ont ainsi seulement représenté 19 % des appels.

Au contraire les mois hivernaux de Décembre, Janvier, Février et Mars ont regroupé la grande majorité des appels, dans l'ordre croissant ce sont les mois de Mars 2022, Mars 2021, Février 2022 et Janvier 2022 où le nombre de suspicions d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes a été le plus important au CNITV avec respectivement 16, 12, 11 et 9 appels. À eux seuls ces 4 mois ont regroupé 65 % des suspicions d'intoxication alors qu'ils ne représentaient que légèrement moins d'un tiers de la période d'étude.

Globalement la Figure 52 semble montrer que le nombre d'appels reçus au CNITV pour des cas d'intoxication aux mycotoxines a progressivement augmenté au début de la période hivernale pour atteindre un maximum avant de diminuer à la fin de cette saison. Le nombre d'appels reçus pour de telles intoxications par le CNITV a donc été bien plus important lors de la période hivernale que durant le reste de l'année.

Influence du substrat alimentaire :

Afin de déterminer si cet aspect saisonnier de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes était lié ou non à la nature du substrat ingéré par les chiens, une distinction des cas en fonction de celle-ci a été réalisée et est présentée ci-dessous (Figure 53) :

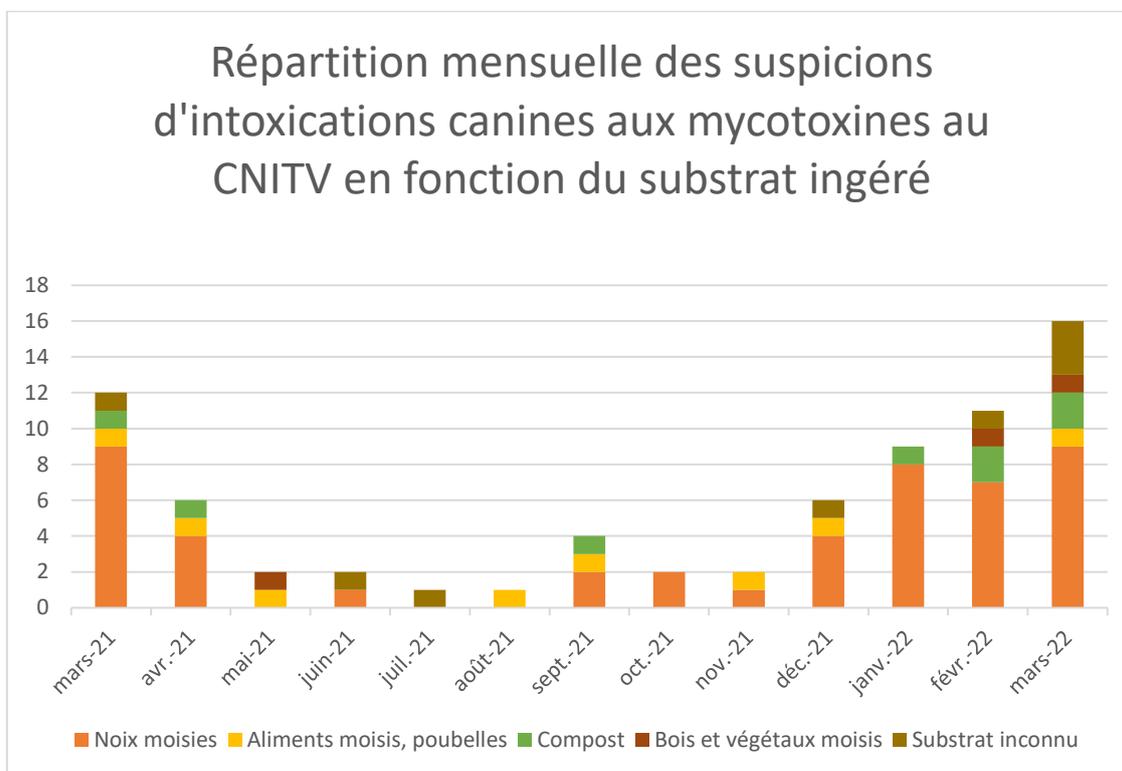


Figure 53 : Répartition mensuelle des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 en fonction du substrat ingéré (n=74 appels)

Comme le montre la Figure 53, les noix moisis ont largement été l'aliment le plus suspecté d'avoir causé des intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes. La distribution mensuelle des sollicitations du CNITV au sujet d'une intoxication aux noix moisis semble correspondre fortement à celle observée sans distinction de substrat, avec un nombre d'appels beaucoup plus important sur les mois hivernaux (Décembre, Janvier, Février, Mars) que durant la période estivale, qui regroupent 79 % (37/47) de tous les appels évoquant ce toxique. L'intoxication aux noix moisis a donc également été bien plus fréquemment rapportée au centre antipoison en hiver que durant les autres saisons. D'autant plus que pas plus de 2 appels concernant des noix moisis ont été reçus au cours d'un même mois par le CNITV de Mai 2021 à Novembre 2021.

L'analyse de la distribution mensuelle des appels était moins intéressante pour les autres sources de mycotoxines trémorigènes. Ils étaient en effet trop peu nombreux par rapport à ceux concernant les noix moisis. Néanmoins quelques observations ont tout de même été possibles :

-Les appels concernant une intoxication suite à la consommation d'un aliment moisi semblaient être dispersés tout au long de l'année, ils ont cependant été peu nombreux.

-À l'exception d'un appel reçu par le CNITV en Septembre toutes les suspicions d'intoxication au compost ont eu lieu durant les mois de la période hivernale et au début du printemps.

-Les appels concernant les végétaux et le bois moisiss ont, eux, été en bien trop faible effectif pour évaluer leur répartition en fonction des différents mois de l'année.

b) Répartition géographique des appels

L'origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes est représentée sur la carte représentée ci-dessous (Figure 54).

Certains territoires métropolitains tels que la Lorraine, La corse, La Franche-Comté et tout le Nord-Ouest de la France (Bretagne, Normandie, Poitou-Charentes) n'ont été à l'origine que de très peu d'appels durant les 13 mois de l'étude. Au maximum les départements se trouvant dans ces régions ont effectivement été à l'origine d'au maximum 1 seul appel reçu par le CNITV, et même d'aucune sollicitation de ce centre antipoison pour la majorité d'entre eux.

Deux aires géographiques ont semblé concentrer une majorité des appels. La première est constituée par un ensemble de départements regroupés autour du département du Rhône. Cette zone s'étend du département de la Côte d'Or au Nord et englobe toute la vallée du Rhône vers le Sud en s'étalant jusqu'aux Bouches du Rhône. D'Est en Ouest ce groupe de départements semble s'étendre de la Haute Savoie jusqu'au Massif central. Au sein de ce territoire ce sont les départements du Rhône et de l'Isère qui ont été à l'origine du plus grand nombre de sollicitations du CNITV pour des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes avec respectivement 4 et 3 appels émis.

La seconde partie du territoire métropolitain ayant engendré un grand nombre d'appels se situe dans le Sud-Ouest et semble regrouper tous les départements constituant la vallée de la Garonne et ses alentours. Citons notamment la Haute-Garonne et la Gironde qui ont été chacune à l'origine de 4 appels au CNITV, et la Charente-Maritime, le Tarn et le Lot -et-Garonne ayant été les zones d'émissions de 3 appels.

Le CNITV a également recensé 3 appels provenant des départements des Pyrénées Atlantiques et des Alpes Maritimes qui sont tous deux proches des deux zones précédemment décrites. Enfin le Val-d'Oise, les Hauts-de-Seine et la Seine-Maritime ont eux aussi été à l'origine de 3 suspicions de chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes au cours de cette étude.

Il est intéressant de souligner que la majorité des appels recensés par le CNITV de Février 2021 à Mars 2022 pour des chiens suspectés d'être victimes d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes provenait de départements regroupés autour de 3 grands fleuves Français (la Garonne, le Rhône et la Seine) et de zones à forte densité de population humaine et canine.

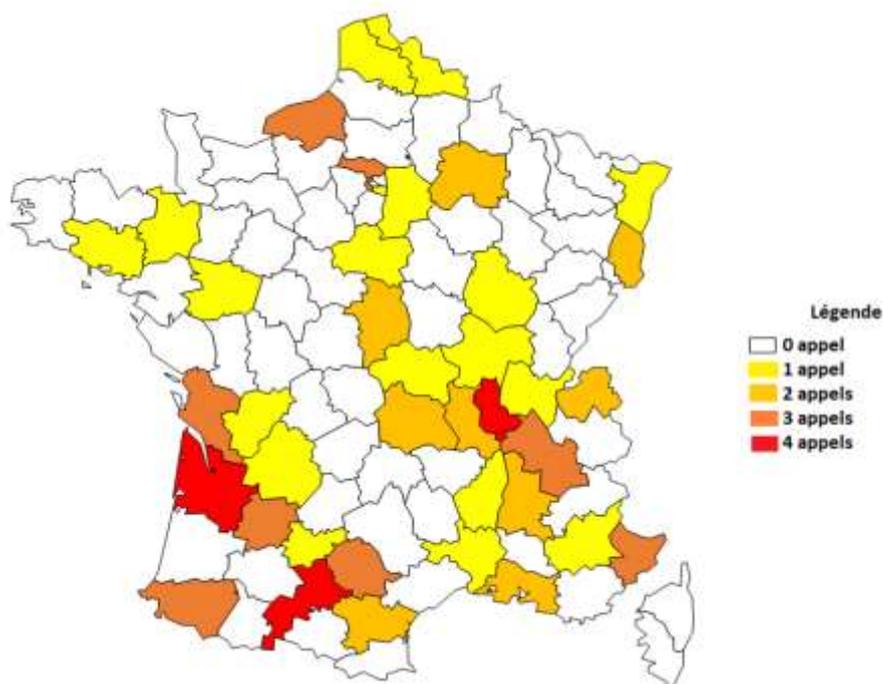


Figure 54 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Influence du substrat alimentaire :

Afin de déterminer l'influence de la source des mycotoxines trémorigènes sur la répartition géographique des suspicions d'intoxications canines causées par ce toxique, une représentation de l'origine des appels reçus par le CNITV en fonction de la nature du substrat alimentaire ingéré a été réalisée. Celle-ci est présentée sur les deux cartes suivantes (Figures 55 et 56) :

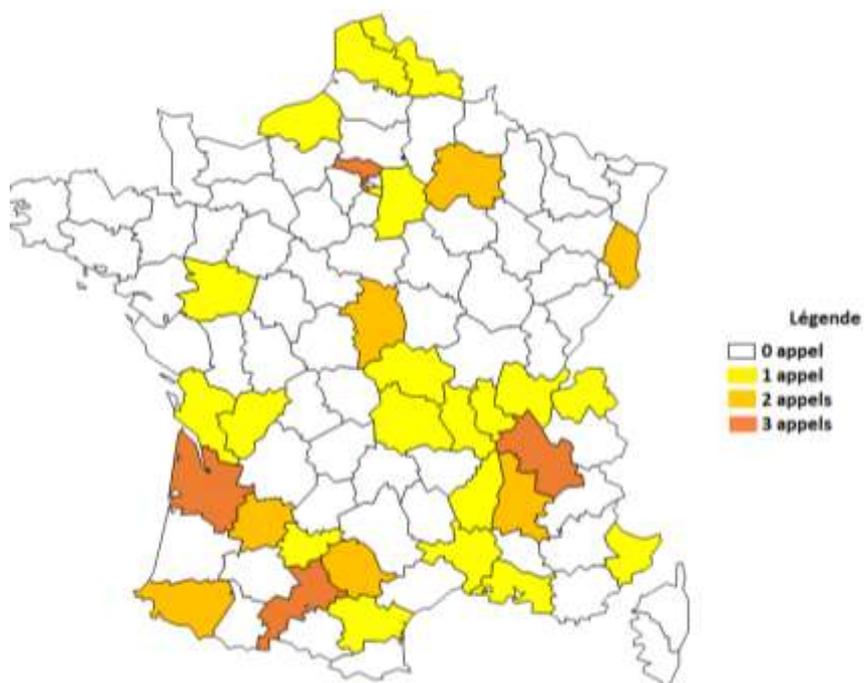


Figure 55 : Origine géographique des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels)

La répartition géographique des appels émis pour une suspicion d'intoxication canine aux noix moisies a globalement été similaire à celle concernant toutes les intoxications aux mycotoxines trémorigènes. En effet les zones géographiques à l'origine de la majorité des appels sont toujours constituées des départements aux alentours de la vallée de la Garonne et de ceux se situant entre le Massif central et les Alpes. Dans ces territoires ce sont la Haute-Garonne, La Gironde et l'Isère qui ont été à l'origine d'un maximum de sollicitations du CNITV avec 3 appels émis pour chacune de ces régions.

Le Val-D'oise et les Hauts-de-Seine ont eux aussi été responsables de 3 demandes au CNITV concernant une intoxication canine aux noix moisies.

Les seules différences ayant été observées en restreignant les cas à ceux causés par les noix moisies sont l'absence d'appels provenant de Bretagne et de Bourgogne, et la forte diminution de suspicions d'intoxications dans le département du Rhône, passées de 4 à 1 sollicitation du CNITV.

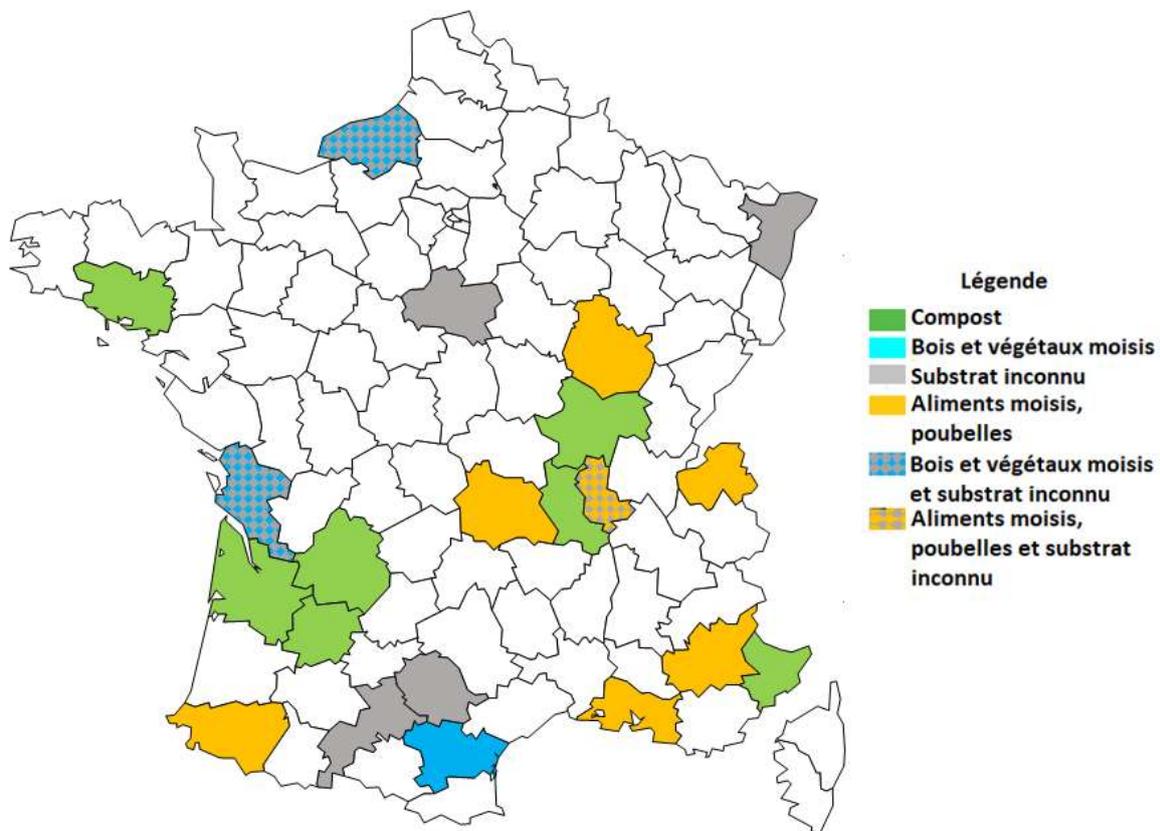


Figure 56 : Départements d'origine des appels reçus par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine au compost, bois et végétaux moisies ou par un substrat inconnu entre Février 2021 et Mars 2022 (n=27 appels)

L'analyse de l'origine des appels substrat par substrat n'a pas fait ressortir de zone regroupant la majorité des appels pour une consommation canine de bois ou de végétaux moisies, d'aliments moisies, du contenu de poubelles ou d'un substrat inconnu. Les appels concernant chacune de ces sources toxiques semblaient émaner de départements dispersés au sein du territoire Français. Néanmoins l'effectif de ces derniers étant très faible peu de déductions ont été possibles à partir de ces données. En revanche pour le compost les appels semblaient être originaires de régions voisines, ainsi 2 ensembles de départements limitrophes « la Gironde, la Dordogne et le Lot et Garonne » et la « Loire, et la Saône et Loire » et le département des Alpes Maritimes (à l'origine de 2 suspicions d'une intoxication canine au compost) regroupaient 7 des 8 appels reçus par le CNITV. Bien que ce nombre

d'appel ait été très faible, il serait peu probable qu'une distribution aléatoire regroupe de la sorte géographiquement les suspicions d'intoxications au compost.

Enfin en regroupant toutes les sources de mycotoxines autres que les noix moisies sur une même carte les mêmes zones de la vallée de la Garonne et des départements centrés autour du Rhône semblaient à nouveau se dessiner.

Au final l'origine géographique des appels concernant une intoxication aux mycotoxines trémorigènes en France métropolitaine ne semble pas aléatoire, certaines régions dont notamment la vallée de la Garonne et la zone située entre le Massif central et les Alpes semblent engendrer un plus grand nombre d'appels au CNITV. Cette observation semble valable également pour les cas d'intoxication suspectés aux noix moisies et au compost.

c) Lieux et circonstances des intoxications

Le lieu d'intoxication majoritaire des chiens suspectés d'avoir été exposés à des mycotoxines trémorigènes, et dont la suspicion a été transmise au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022, a été le jardin des propriétaires. Celui-ci représentait en effet 44 % des appels. Les autres lieux d'intoxications les plus fréquents ont été la maison des propriétaires et les espaces de promenades à l'origine de respectivement 34 % et 17 % des consommations supposées de ce toxique. Enfin le lieu d'intoxication était inconnu lors de 3 appels, et 1 unique fiche V-Tox® a mentionné le milieu naturel comme environnement d'exposition au toxique. Ces fréquences sont représentées sur la Figure 57 suivante :

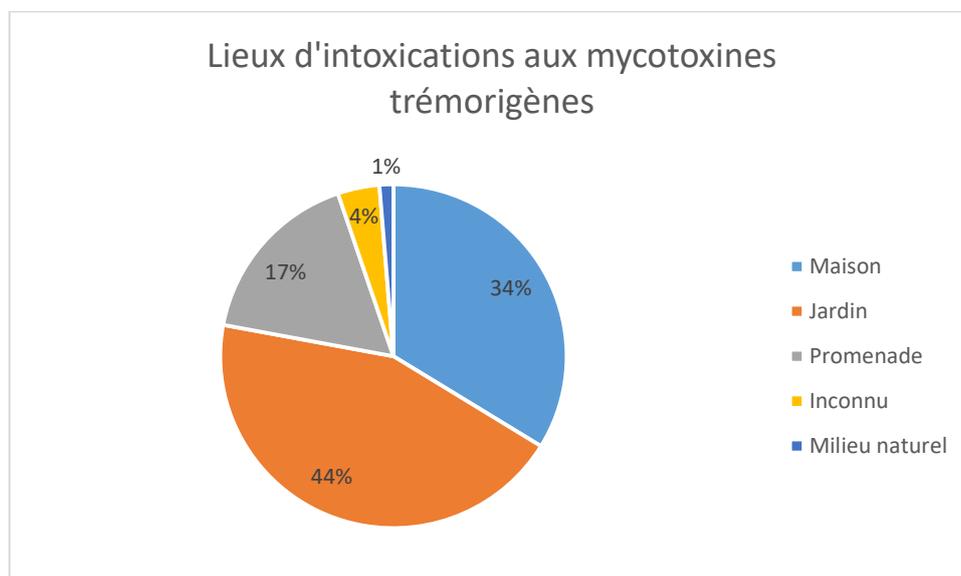


Figure 57 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Les circonstances des intoxications aux mycotoxines trémorigènes rapportées au CNITV (Figure 58) au cours de cette étude sont largement constituées par une majorité de contextes d'accidents : 77 %. Et à l'exception d'un appel pour lequel l'historique de l'intoxication n'est pas connu, tous les 17 autres suspicions (soit 22,1 % d'entre elles) ont eu lieu en raison de la présence d'une source de ces métabolites fongiques dans l'environnement de l'animal.

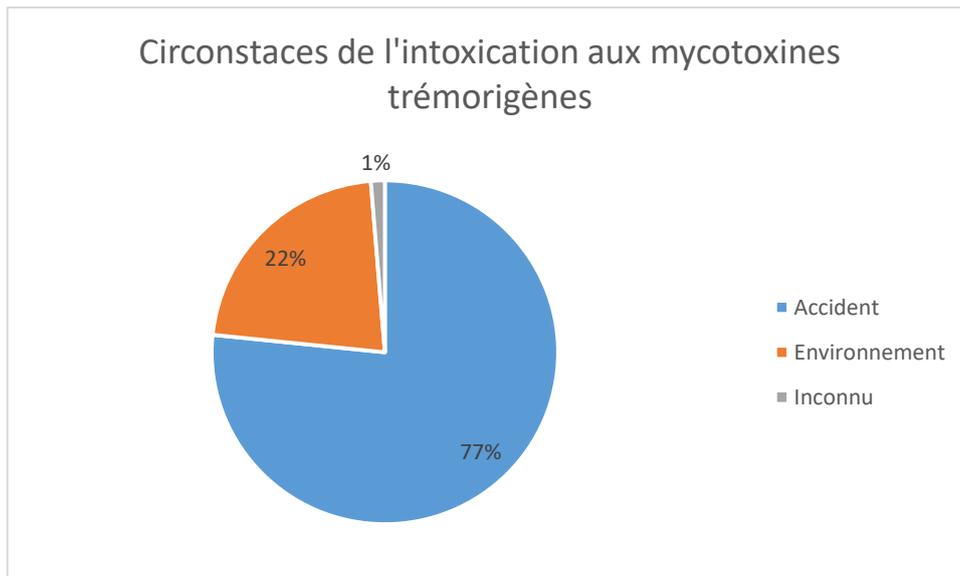


Figure 58 : Circonstances des intoxications suspectées aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Influence du substrat

En restreignant cette analyse aux 50 appels correspondant à des suspicions d'intoxications aux noix moisies (Figure 59) la maison des propriétaires est moins fréquemment mentionnée, celle –ci représente alors 26 % des appels. Au contraire les proportions de consommation de noix moisies dans les jardins et les lieux de promenade se trouvent augmentées avec respectivement 48 % et 24 % des appels.

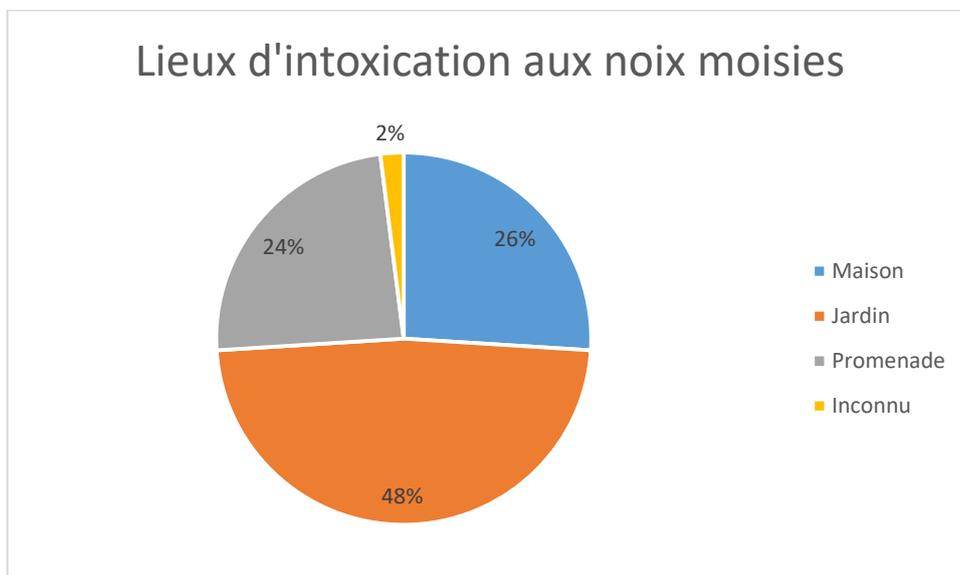


Figure 59 : Lieux d'intoxications suspectés lors des appels au CNITV pour une intoxication canine aux noix moisies entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels)

Dans le cas du compost, sur les 8 appels liés à sa probable responsabilité dans une intoxication canine 62,5 % relataient une intoxication dans le jardin, les trois consommations restantes ayant eu lieu dans

la maison. Lorsque le substrat alimentaire suspecté d'être responsables des symptômes observés sur les chiens était un aliment altéré ou le contenu d'une poubelle, la maison des propriétaires était de très loin le lieu d'intoxication le plus fréquent avec 75 % (6/8) des appels concernés. L'intoxication de chiens a majoritairement lieu à l'intérieur des habitations dans les cas de consommation d'aliments moisies et à l'extérieur lors de suspicions d'ingestion compost ou aux noix moisies.

Concernant les circonstances des intoxications, comme le montre la Figure 60 ci-dessous les proportions d'accidents 70 % et de présence des noix moisies dans l'environnement des animaux 28 % étaient assez semblables à celles de tous les substrats contenant potentiellement des mycotoxines trémorigènes. La part des accidents a cependant diminué de 6,6 % au profit de celle des accidents qui a augmenté de 5,9 %.

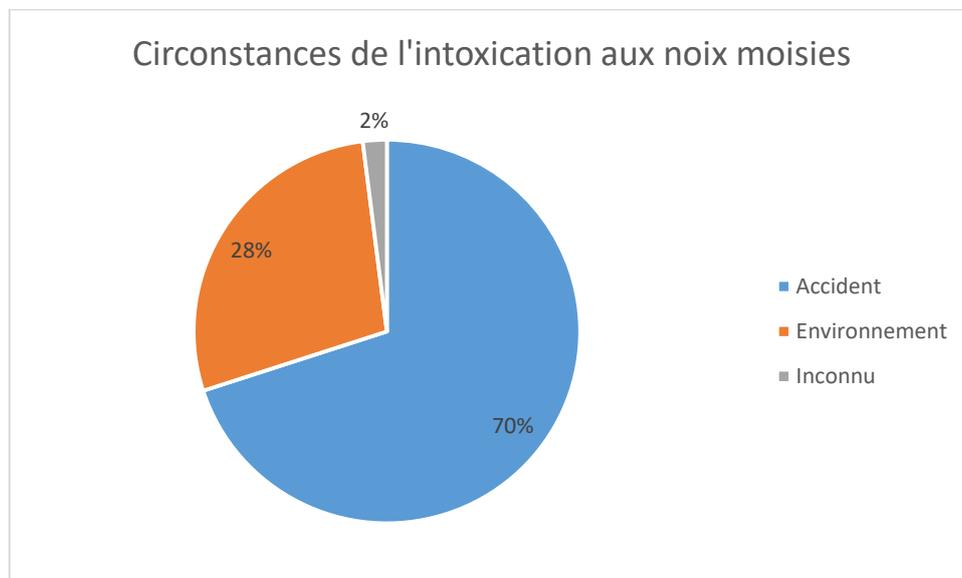


Figure 60 : Circonstances des intoxications canines suspectées aux noix moisies lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=50 appels)

Concernant les 8 expositions supposées à du compost, celles-ci ont toutes été référencées comme accidentelles dans V-Tox®

3. Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication

a) Race et sexe des animaux

Race :

La race des chiens suspectés d'intoxication était connue dans 72,8 % des appels. Au total, 38 races de chiens différentes ont été dénombrées en plus des chiens mentionnés comme étant de race « croisée ». Celles-ci sont citées dans le Tableau XXIV suivant :

Tableau XXIV : Races des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Races de chien ayant fait l'objet de plus d'un appel au CNITV (nombre d'appels)
Croisée (7), Épagneul Breton (4), Berger Allemand (3), Berger Australien (3), Beagle (2), Berger Belge Malinois (2), Chihuahua (2), Labrador (2), Setter Anglais (2)
Races de chien ayant fait l'objet d'un seul appel au CNITV
American Staffordshire terrier, Beauceron, Berger Américain, Berger Belge Groenendael, Bichon frisé, Bichon Maltais, Border Collie, Boston terrier, Bouledogue Français, Bouvier Bernois, Braque de Weimar, Bull Terrier, Cane Corso, Cavalier King Charles, Chien nu du Japon, Cocker, Doberman, Fox terrier, Husky, Jack Russel terrier, Lévrier Greyhound, Pinscher nain, Ratier de Prague, Shih Tzu, Spitz nain, Teckel, Terrier du Tibet, Terrier Russe, Yorkshire terrier

Aucune surreprésentation raciale n'est ressortie de ces résultats. Parmi les races de chiens dont plusieurs individus ont été suspectés d'intoxication la présence de tous les gabarits de chiens a été remarquée, du Chihuahua faisant partie des plus petites races canines du monde, aux chiens de taille moyenne comme le Beagle ou le Berger Australien et jusqu'à des grandes races de chien comme le Berger Allemand. De plus au cours des 56 appels, 38 races différentes ont été représentées en plus de 7 chiens croisés, ce qui constituait une diversité très importante de races de chiens susceptibles de s'intoxiquer avec des mycotoxines trémorigènes.

Sexe : (Figure 61)

Le sexe des chiens intoxiqués était connu pour 50 des appels, parmi eux 24 concernaient des mâles et 24 des femelles. Les 2 dernières communications mentionnaient au moins un chien de chaque sexe, suspecté d'avoir été contaminé par des mycotoxines trémorigènes. Une parfaite égalité entre les sexes dans la susceptibilité de consommation de mycotoxines trémorigènes a donc été montrée par ces résultats.

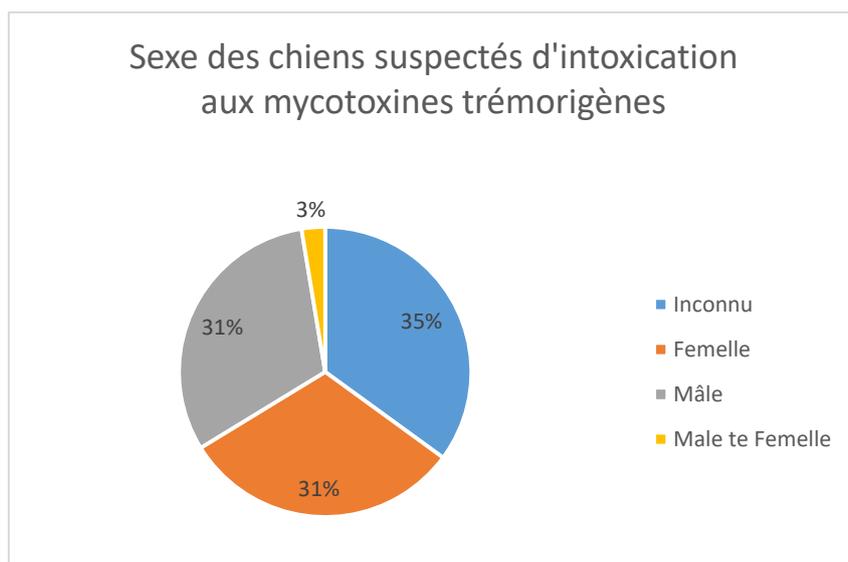


Figure 61 : Sexe des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

b) Age et poids des animaux

Age : (Figure62)

La majorité des chiens suspectés d'avoir été intoxiqués par des mycotoxines trémorigènes étaient des adultes, âgés de 1 à 8 ans pour 55 % d'entre eux. Les animaux de moins d'un an 26 % ont été référencés comme jeunes à l'exception des 2 chiens de moins de 2 mois considérés comme très jeunes (soit 3 % de tous les animaux) par les permanents du CNITV. Les animaux considérés comme âgés (plus de 8ans) représentaient eux 10 % des appels. Enfin 5 fiches V-Tox® ne mentionnaient pas l'âge de l'animal.

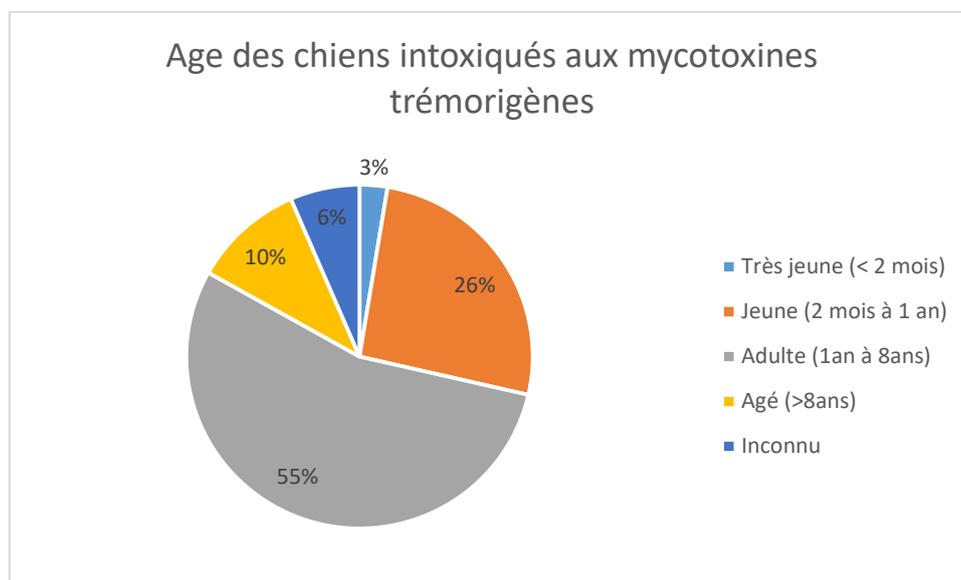


Figure 62 : Âge des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors des appels reçus par le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

En considérant l'âge moyen de durée de vie de l'espèce canine aux alentours de 12 ans et en tenant compte des durées très différentes des catégories d'âge citées précédemment il a été possible d'observer des tendances liées à l'âge des animaux dans ces résultats. En effet en multipliant ou divisant ces durées afin de les ramener à une année et en appliquant le même facteur de multiplication ou de division au nombre d'appel concernés, les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 25 suivant :

Tableau XXV : Nombre d'appels reçus par le CNITV pour des intoxications aux mycotoxines trémorigènes en fonction des classes d'âge des chiens ramenées à une durée d'un an

Classe d'âge	Très jeune (<2 mois)	Jeune (de 2 mois à 1 an)	Adulte (de 1 an à 8 ans)	Agé (>8ans)
Durée de la classe d'âge	2 mois	10 mois	7 ans	4 ans
Nombre d'appels (=N)	2	20	42	8
Facteur de multiplication ou de division (=F)	6	6/5	1/7	1/4
N*F	12	24	6	2

Comme le montre la dernière ligne du Tableau XXV précédent, les résultats de cette étude montraient qu'en ramenant la durée de chaque classe d'âge à un temps similaire les jeunes chiens seraient 4 fois plus sujets à engendrer un appel au CNITV pour une intoxication aux mycotoxines trémorigènes que des animaux adultes. Les très jeunes chiens seraient eux aussi 3 fois plus fréquemment à l'origine de la sollicitation du centre antipoison, pour ce même motif, que des chiens adultes. Enfin les animaux âgés seraient les moins propices à engendrer un contact du CNITV pour ce type d'intoxication, ils seraient même, d'après les données de notre étude, 3 fois moins impliqués que les animaux adultes dans ces communications téléphoniques.

Poids :

Le poids des animaux était connu dans 79 % des appels. Le poids des chiens intoxiqués était très variable, l'animal suspect de consommation de mycotoxines trémorigènes le plus lourd pesait 50 kg et le plus léger présentait un poids de 1,9 kg. La moyenne de poids des chiens suspectés d'être intoxiqués était de 15,3 kg et leur poids médian de 11,5 kg. Ainsi des chiens de tout type de poids ont semblé être à l'origine d'appels au CNITV dans le cadre d'une suspicion d'exposition aux mycotoxines trémorigènes.

c) État des animaux au moment de l'appel

Au cours des 77 appels reçus par le CNITV de la part des praticiens vétérinaires, 84 chiens étaient suspectés d'avoir été exposés aux mycotoxines trémorigènes, et le même nombre d'animaux a été référencé comme atteint par les permanents du centre antipoison. Ainsi lors de la consultation du CNITV 100 % des animaux concernés présentaient au moins 1 symptôme.

2 animaux étaient déjà morts lorsque leur vétérinaire a contacté le centre antipoison, soit 2,4 % (2/84) des animaux suspectés d'exposition aux métabolites fongiques. Le premier était un lévrier Greyhound ayant consommé de la pâtée pour chat moisie, le second un ratier de Prague suite à la consommation d'un substrat inconnu.

Aucun chien n'était en revanche d'ores et déjà totalement remis de l'intoxication au moment de l'appel du CNITV.

Le personnel du CNITV a estimé dans une large partie des appels, 64 %, que les symptômes décrits par les appelants témoignaient d'une atteinte modérée de l'animal intoxiqué. Vingt-deux vétérinaires ont en revanche signalé des cas jugés comme des chiens sévèrement atteints par le centre antipoison, ce qui représentait tout de même 29 % des appels. Les intoxications considérées comme bénignes ont été bien plus rares avec seulement 4 fiches V-Tox[®] concernées, soit seulement 5 % des cas. Ces résultats sont représentés sur la Figure 63 suivante :

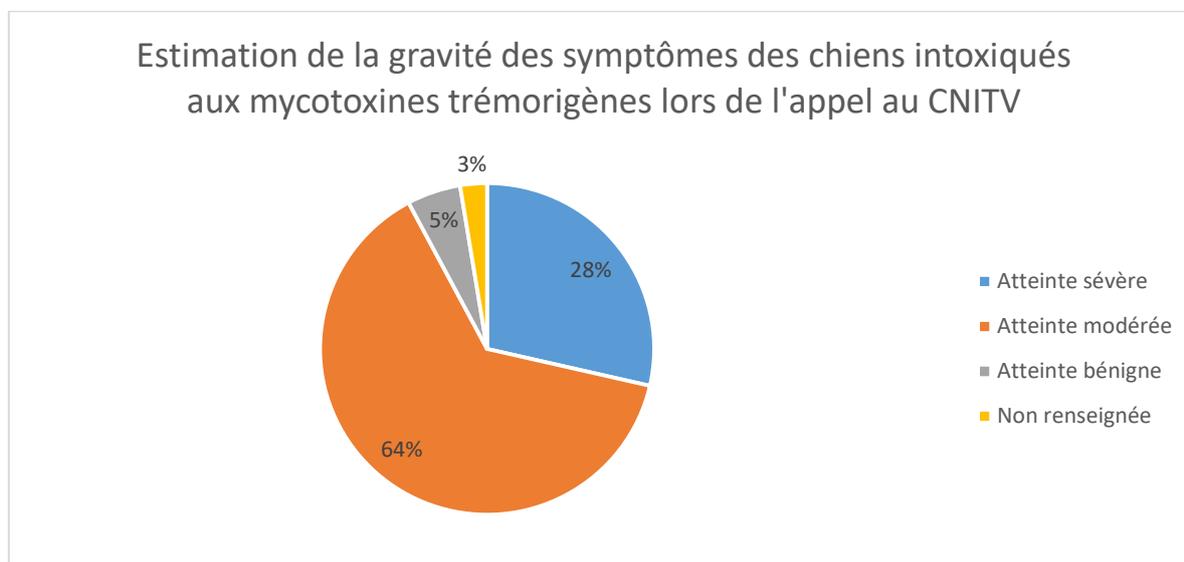


Figure 63 : Gravité des symptômes chez les chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes lors d'appels au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

4. Toxiques suspectés

a) Nature du substrat ingéré

Les 77 suspicions de consommation de mycotoxines recensées dans cette étude ont été liées en grande majorité à la consommation de noix moisies, précisément 50 appels ont eu lieu suite à l'ingestion de ce substrat. La consommation de ce toxique a très souvent eu lieu au pied de l'arbre dans le milieu extérieur, il a alors en général été signalé que l'ingestion concernait des fruits dans leur intégralité, à savoir des cerneaux dans leurs coquilles souvent recouvertes de brous en décomposition. La consommation de noix cueillies et conservées par l'homme n'a été rapportée dans aucune fiche V-Tox[®] analysée dans cette étude.

Les 27 appels non liés à la consommation de noix moisies ont été regroupés en 4 catégories de substrats : les aliments moisies et le contenu de poubelles, le compost, le bois ou les végétaux moisies et enfin les substrats inconnus. La précision apportée au sujet de la nature du substrat alimentaire était variable selon les appels et ces catégories. En effet dans le cas du compost la composition de celui-ci n'a jamais été précisée lors des appels, à une exception près où la présence de « restes alimentaires moisies » au sein de celui-ci a été mentionnée.

Dans les suspicions portant sur la consommation d'un aliment moisi celui-ci a souvent été décrit avec une grande précision. Dans cette étude 4 appels ont mentionné une denrée alimentaire destinée initialement à la consommation humaine, à savoir : des pâtes moisies, du fromage blanc avec 1 cm de moisissure à sa surface, de la soupe périmée et du maïs moisi. De plus un chien a été intoxiqué suite à

la consommation de pâtée pour chat moisie et un autre avec un aliment moisi indéterminé ayant été oublié dans la cave des propriétaires.

2 appelants ont fait mention de troubles survenant chez des chiens ayant consommé le contenu de poubelles domestiques. Lors de ces scénarios, les propriétaires ont alors uniquement pu apporter de faibles précisions sur les substrats potentiellement ingérés par les animaux en signalant que les déchets pouvaient dater d'une semaine ou que ceux-ci étaient essentiellement constitués des restes alimentaires des fêtes de fin d'année.

Enfin les 3 substrats végétaux, suspectés d'avoir été source de mycotoxines trémorigènes, recensées au cours de cette étude, ont été : un néflier moisi, du bois moisi issu d'une terrasse en destruction et des graines germées moisies.

Dernièrement il a été remarqué, suite à la lecture des fiches V-Tox[®] incluses dans cette étude, qu'au sein de toutes ces suspicions recensées par le CNITV aucun aliment ou végétal non moisi ou non altéré n'a été suspecté comme source de mycotoxines trémorigènes.

b) Dose ingérée

La dose de substrat alimentaire, source de mycotoxines trémorigènes, ingérée a été référencée comme inconnue pour légèrement plus de la moitié des appels, 51 %. Bien que dans cette étude la nature du substrat ait été connue dans 90 % des suspicions, la dose ingérée par l'animal l'était donc nettement moins. De plus même dans les cas où la case « dose du toxique » de la fiche V-Tox[®] était renseignée, la quantité à laquelle l'animal avait été exposé par voie orale était souvent très approximative.

Ainsi en ce qui concerne les noix moisies, les termes quantitatifs suivants ont été mentionnés : « pas mal », « quelques », « plusieurs », « tous les jours », « toute la journée », « 1 ». À l'exception de la mention d'un unique fruit consommé tous les autres termes ne permettaient pas d'estimer une quantité précise ingérée.

Aucun appel ayant été émis au centre antipoison pour une intoxication suite à l'ingestion de compost ou du contenu de poubelles n'a mentionné une précision quantitative. Pour ceux concernant des aliments moisies seul celui concernant le fromage blanc a été accompagné d'une vague indication de dose avec le terme : « un pot ».

Enfin dans les cas faisant référence à des végétaux, le bois moisi n'a pas été quantifié, au contraire du néflier constitué d'un seul plant et des graines germées où la mention « quelques » a été ajoutée.

En conclusion : la nature du substrat est généralement précisée au centre antipoison, la quantité ingérée beaucoup moins.

c) Imputation du toxique

Dans toutes les suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes non liées à la consommation de noix moisies, le toxique « Mycotoxine NP » a bien été mentionné par les permanents du CNITV. Pour les noix moisies, certaines fiches ont été corrigées pour y inclure le toxique « Mycotoxine NP » si celui-ci était manquant.

Suite à cette correction les résultats ont montré que l'imputation des mycotoxines trémorigènes a été jugée comme certaine dans 69 % des appels. Cette probabilité de responsabilité de ces métabolites secondaires fongiques dans les intoxications recensées dans cette étude a également été renseignée comme probable pour 27 % des appels, et de façon anecdotique comme peu probable dans 4 % de ces derniers. L'exposition des chiens suspects de ce type d'intoxication a donc été majoritairement certaine, pour ces cas ayant entraîné le contact d'un centre antipoison par un vétérinaire.

Influence du substrat

Concernant les 50 sollicitations du CNITV pour des suspicions d'intoxications aux noix moisies, l'imputation du toxique « Noyer » a été désignée comme certaine lors de 64 % des appels et probable pour 18 % d'entre eux. Celle-ci a cependant été jugée peu probable pour 18 % des communications.

Pour les 8 appels reliés à de probables consommations de compost par des chiens, l'imputation du toxique « Mycotoxines NP » a été référencée comme certaine dans 75 % des appels et probable dans les 25 % restants. Concernant les cas liés à la consommation d'aliments moisies, la responsabilité des mycotoxines trémorigènes dans les symptômes présentés par le chien a été jugée certaine dans 68 % des cas, probable dans un quart d'entre eux, et peu probable pour un seul appel. Et lors de la consommation de végétaux ou bois moisies l'imputation du toxique a été désignée comme probable à deux reprises et certaine pour le dernier de ces appels. Enfin concernant les ingestions de substrats inconnus, l'imputation des mycotoxines a été jugée comme certaine dans 50 % des suspicions et probable dans le même nombre de sollicitations du centre antipoison.

Ainsi, lors d'un appel au CNITV pour une suspicion d'ingestion de mycotoxines, la grande majorité des cas est imputée « certaine » ou « probable ».

d) Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel des praticiens vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes sera abordé dans la partie (Partie II ; III) B) 3) 2.) de l'étude prospective. La description des autres hypothèses diagnostiques des cliniciens a en effet fait l'objet de questions spécifiques dans le questionnaire leur ayant été proposé lors des rappels.

e) Origine de la suspicion du toxique

Au cours des 77 suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ayant été recensées par le CNITV de fin Février 2021 à Mars 2022, 93,1 % des vétérinaires appelants avaient d'ores et déjà, au moment de l'appel, suspecté ce toxique comme responsable de l'état de l'animal en question. En ce qui concerne les 5 cas où le permanent du CNITV a été à l'origine de la suspicion de ces métabolites fongiques dans l'apparition des troubles chez le chien atteint, 3 d'entre eux concernaient des suspicions de consommation de noix moisies. Dans un de ces cas, le vétérinaire avait bien suspecté l'ingestion de noix, sans mentionner les mycotoxines. Les 2 derniers appels où le centre antipoison a été à la base de la suspicion du toxique « Mycotoxine NP » ont fait suite à des consommations d'aliments moisies par des chiens, où le vétérinaire consulté n'avait pas fait le lien avec la possibilité de présence de telles toxines dans le substrat ingéré.

5. Symptomatologie

a) Délai d'apparition des symptômes

Pour un peu plus de la moitié des appels (52 %) le délai d'apparition des symptômes était compris entre 1 et 12 h, et pour 25 % des communications ce dernier a été encore plus rapide car les premiers signes cliniques sont apparus chez les chiens moins d'une heure après la consommation du toxique. Seules 2 suspicions d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes ont fait mention d'une occurrence des premiers symptômes entre 12 et 24 h après exposition au toxique. Cette durée restait néanmoins inconnue dans une part non négligeable des appels, en effet dans légèrement plus d'une communication téléphonique sur 5 celle-ci n'était pas renseignée.

Au final 76 % des suspicions d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ont mentionné un délai d'apparition des symptômes inférieur ou égal à 12 h. En se restreignant aux cas pour lesquelles ce délai est connu ce sont même 97 % des appels qui sont concernés par cette caractéristique. Enfin, comme en témoigne la Figure 64, aucune durée apparition d'un symptôme supérieure à 24 h après une possible consommation de mycotoxines trémorigènes n'a été relevée par le CNITV au cours des 13 mois de l'étude.

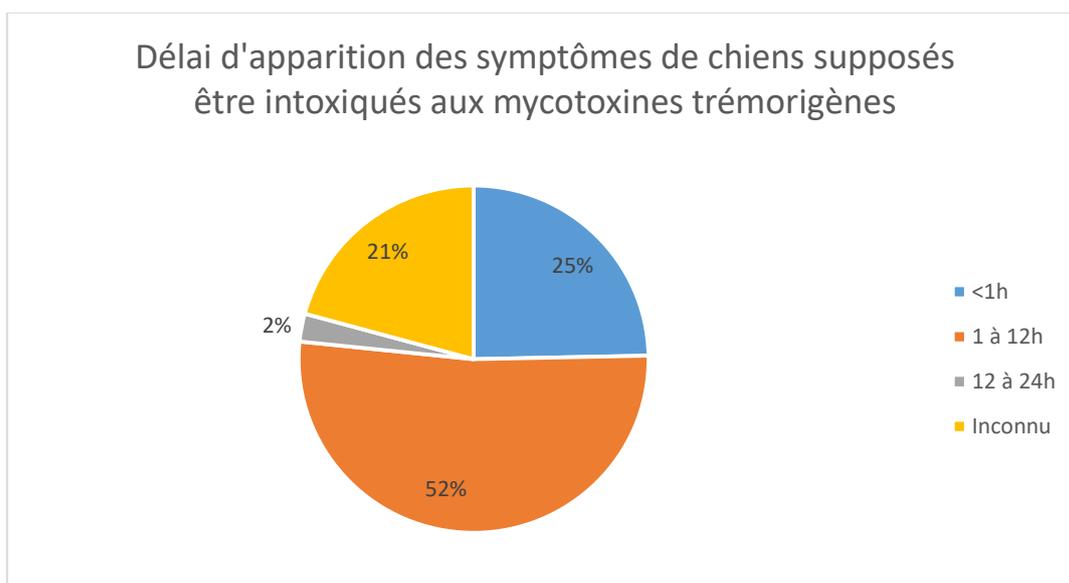


Figure 64 : Délai d'apparition des symptômes lors de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes rapportées au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

b) Symptômes neuro-musculaires

La présence de symptômes neuro-musculaires chez les chiens suspects de consommation de mycotoxines trémorigènes a été rapportée dans 95 % des appels, ce qui les a classés largement en tête des signes cliniques les plus fréquemment rapportés dans ce type d'intoxication. Ainsi seuls 4 chiens n'en présentaient pas au moment du contact du centre antipoison. Le Tableau XXVI ci-après décrit les fréquences des différents troubles neurologiques relevés par le CNITV au cours de ces communications téléphoniques :

Tableau XXVI : Fréquence des troubles neuro-musculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Étude	Étude rétrospective (2021-2022)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Nombre de cas démontrés, de suspicions, ou d'appels	77 appels	76 appels	69 suspicions d'intoxication	29 cas démontrés d'intoxications
Présence de signes neuro-musculaires	95 %	100 %	93 %	100 %
Trémulations musculaires	70 %	77,6 %	63,8 %	89,7 %
Convulsions	29 %	30,3 %	33,3 %	70 %
Ataxie	35 %	30,3 %	27,5 %	58,6 %
Hyperesthésie	10 %	Absence de données	15,9 %	34,5 %
Hyper sensibilité au bruit	Absence de données	Absence de données	Absence de données	17,2 %
Nystagmus	4 %	Absence de données	5,8 %	20,7 %
Opisthotonos	1 %	Absence de données	2,9 %	17,2 %
Coma	0 %	Absence de données	4,3 %	6,9 %
Parésie	1 %	Absence de données	Absence de données	Absence de données

Parmi ces troubles neuro-musculaires recensés au CNITV, les trémulations musculaires ont été les plus fréquents avec 70 % des appels les mentionnant. Le plus souvent généralisées, celles-ci ont également été décrites comme concernant uniquement la tête ou les membres des animaux. Le second symptôme le plus souvent cité par les vétérinaires a été l'ataxie avec 35 % des communications concernées. Celle-ci pouvait aller d'une simple augmentation du polygone de sustentation de l'animal à une incoordination motrice majeure empêchant l'animal de se tenir debout. Le 3ème signe rapporté en termes de fréquence a été la présence de convulsions. Décrites dans 29 % des appels, seuls 6 d'entre eux ont ajouté une précision à la description de ces crises convulsives en les mentionnant comme cloniques. Ainsi aucune convulsion tonique n'a été signalée par les appelants au cours de cette étude. Une hyperesthésie a été décrite chez 10 % des chiens mais aucune précision n'a été ajoutée à cette mention dans les fiches V-Tox®, il pouvait donc s'agir d'hypersensibilité liée au sens de l'ouïe, de la vue ou du toucher de l'animal intoxiqué.

D'autres signes nerveux beaucoup moins fréquents ont aussi été référencés dans les fiches V-Tox®, ainsi un nystagmus a été relevé par 3 vétérinaires ayant contacté le CNITV, et dernièrement une parésie et une position d'opisthotonos ont chacune été mentionnées par 1 seul des 77 appelants. Ces 2 derniers signes ont donc été anecdotiques dans cette étude.

c) Symptômes digestifs

Le second type de symptômes le plus souvent cité dans les fiches V-Tox® analysées dans cette étude a été celui des troubles digestifs. Ceux-ci ont été mentionnés dans 60 % des appels. Les vomissements spontanés ont représenté la majorité de ces derniers, car ils ont concerné 49 % des communications. De l'hypersalivation a été rapportée par un peu plus d'un appelant sur cinq, elle a donc environ 2,5 fois moins fréquemment été décrite au centre antipoison que les vomissements. Dernièrement seuls 2 chiens présentaient une diarrhée lors du contact du CNITV par leur vétérinaire. Ces fréquences sont présentées dans le Tableau XXVII suivant :

Tableau XXVII : Fréquence des troubles digestifs lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Étude	Étude rétrospective (2021-2022)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Présence de signes digestifs	60 %	53,9 %	67 %	55,2 %
Vomissements	49 %	44,7 %	50,7 %	44 %
Hypersalivation	21 %	21,1 %	11,6 %	13 %
Diarrhée	3 %	Absence de données	7,2 %	3,4 %

d) Symptômes généraux

Le Tableau XXVIII suivant présente les fréquences des symptômes affectant l'état général des animaux atteints, dont notamment celles des modifications de leur température corporelle et celles des altérations du fonctionnement de leur système cardio respiratoire :

Tableau XXVIII : Fréquence de l'altération de l'état général lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Étude	Étude rétrospective (2021-2022)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas démontrés bibliographiques
Abattement, prostration, décubitus latéral	3 %	Absence de données	15,9 % (abattement et léthargie) 4,3 % (décubitus latéral)	20,7 %
Hyperthermie	16 %	9,2 %	15,9 %	34,5 %
Hypothermie	3 %	Absence de données	5,8 %	13,8 %
Troubles cardio-vasculaires	1 %	5,2 %	Absence de données	34,5 %
Tachycardie	1 %	2,6 %	1,4 %	31 %
Bradycardie	0 %	1,3 %	Absence de données	3,4 %
Hypotension	0 %	1,3 %	Absence de données	6,9 %
Congestion des muqueuses	3 %	Absence de données	Absence de données	6,9 %
Troubles respiratoires	1 %	Absence de données	Absence de données	41,4 %
Tachypnée/polypnée, halètement	1 %	Absence de données	Absence de données	31 %
Détresse respiratoire, apnées, hypoventilation	0 %	Absence de données	Absence de données	10,4 %

Une modification de la température corporelle de l'animal a été signalée dans 17 % des appels, 12 d'entre elles soit 16 % des communications ont été des hyperthermies. Seuls 4 appels ont mentionné des valeurs pour ce paramètre biologique, qui ont été de : [39,5 ; 40 ; 40 ; 40,2]. Deux vétérinaires seulement ont décrit au CNITV la présence d'une hypothermie chez un chien suspect d'intoxication, l'un de ces 2 animaux concerné n'a présenté qu'une baisse de la température corporelle mais le second a d'abord été victime d'une phase d'hypothermie avant de voir sa température dépasser 39 °C. La présence d'une hypothermie a donc été très rarement mentionnée au centre antipoison au cours de

cette étude, l'hyperthermie l'a été à de plus nombreuses reprises mais tout de même dans moins d'un appel sur cinq.

Des altérations du système cardio vasculaire ont été très rarement été rapportées au CNITV au cours de cette étude. En effet 1 seul appelant a signalé une altération cardiaque d'un chien au permanent du centre antipoison, il s'agissait alors d'une tachycardie. Concernant le système circulatoire périphérique, une congestion des muqueuses a été référencée dans 2 fiches V-Tox[®]. Les altérations du fonctionnement physiologique du cœur ou du système vasculaire rapportées au CNITV ont donc été anecdotiques au cours de cette étude. De même des troubles respiratoires chez des animaux suspects d'intoxications aux mycotoxines n'ont été signalés que par un seul vétérinaire, qui a témoigné de la présence d'une polypnée chez un chien. Aucune altération importante du système cardio respiratoire mettant en jeu le pronostic vital de l'animal, telle qu'une bradycardie sévère, une détresse respiratoire, une apnée ou une hypotension n'a donc été répertoriée par le CNITV au cours des 13 mois de la période d'étude.

Les autres symptômes affectant l'état général des animaux suspects d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ont également été très rarement rapportés dans cette étude. Ainsi de la prostration a été signalée lors de deux appels, une sécheresse des muqueuses synonyme d'une déshydratation importante dans une seule communication, et de la douleur non spécifique chez un seul animal. Enfin l'occurrence d'un état de mort subite chez un chien suspecté d'intoxication a aussi été considérée comme un symptôme par un permanent du CNITV.

e) Modifications comportementales

Des modifications comportementales chez les animaux intoxiqués ont été très peu mentionnées en tant que symptômes sur les fiches V-Tox[®] au cours de cette étude, ainsi une seule d'entre elles témoigne d'une augmentation de l'état d'agitation de l'animal et une autre de la présence d'une posture anormale, avec appui volontaire de sa tête contre les murs de la part du chien. Aucune des modifications comportementales de chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes n'a donc été rapportée à plus d'une reprise lors d'un appel au CNITV au cours de cette étude.

f) Autres symptômes

Les autres symptômes répertoriés par le CNITV, lors d'appels pour des chiens atteints suite à une exposition aux mycotoxines trémorigènes, ont essentiellement été oculaires (Tableau XXIX). Huit pour cent des appels ont effectivement mentionné une altération de l'appareil oculaire de ces animaux. Précisément lors de 7 % des suspicions une mydriase a été relevée chez le chien victime de troubles. De plus 1 seul appelant a relevé la présence d'un myosis chez l'animal à soigner. Ainsi même si le rapport de troubles oculaires au CNITV a globalement été rare dans cette étude, la présence d'une mydriase a tout de même été, de loin, le signe clinique concernant les yeux le plus souvent observé.

Tableau XXIX : Fréquence des symptômes oculaires lors d'appels reçus au CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Étude	Étude rétrospective (2021-2022)	(Adamczyk et al., 2016)	(Lheureux et al., 2018)	Cas bibliographiques
Signes oculaires	8 %	Absence de données	8,7 %	13,7 %
Mydriase	7 %	Absence de données	8,7 %	10,3 %
Myosis	1 %	Absence de données	Absence de données	3,4 %
Cécité	Absence de données	Absence de données	Absence de données	Absence de données

Bien qu'il ne s'agisse pas de symptômes macroscopiquement observables chez les chiens intoxiqués, des altérations biochimiques, de l'hémogramme et des temps de coagulations sanguins ont également été signalées par des vétérinaires au CNITV dans cette étude. Précisément 1 neutrophilie, 1 augmentation des ALAT, 1 hypoglycémie, 1 augmentation du temps de Quick et 1 augmentation du temps de saignement ont été recensées au cours des 77 appels. Ces modifications des paramètres sanguins sont donc anecdotiques dans les résultats de cette étude.

Concernant l'appareil urinaire, un examen échographique chez un chien suspecté d'intoxication a révélé la présence d'un uro-abdomen et d'une lésion vésicale, mais ces derniers étaient suspectés d'être consécutifs à un sondage vésical. Une hémoglobinurie a également été mentionnée par un praticien au CNITV, mais celui-ci suspectait la présence d'une seconde affection chez l'animal en question. Aucune lésion de l'appareil urinaire sans suspicion d'une autre cause que celle de l'effet propre des mycotoxines trémorigènes n'a donc été relevée au cours de cette étude. Enfin des diminutions de la fréquence de miction et de celle de l'abreuvement ont aussi été signalées sur une même fiche V-Tox®.

En définitive à l'exception de la présence d'une mydriase rapportée chez 6 chiens suspects d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, tous les autres symptômes cités dans cette partie ne l'ont été que lors d'un seul appel au CNITV durant l'étude, il s'agissait donc de troubles isolés.

6. Traitement et évolution

a) Traitement

La Figure 65 suivante résume le rôle des conseils du CNITV dans la prise en charge des animaux suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes :

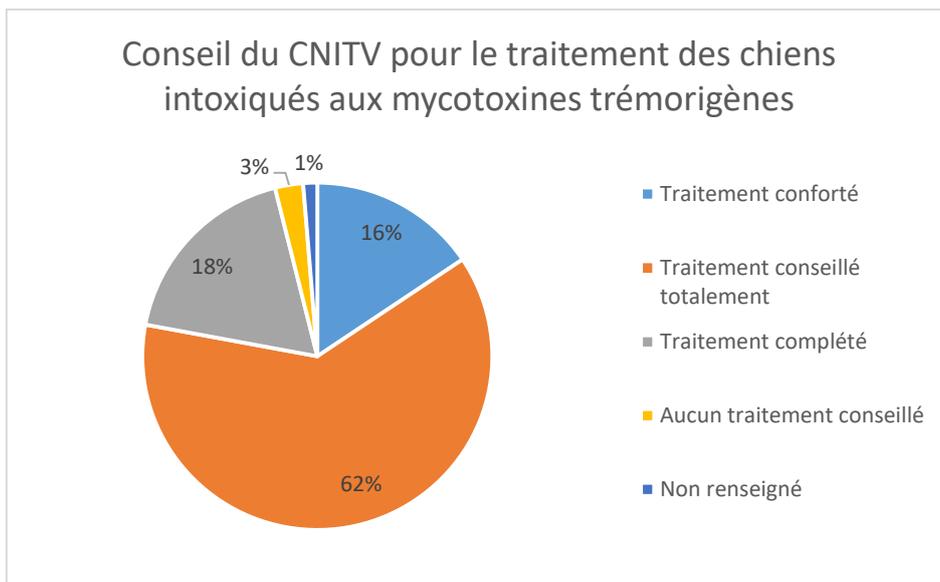


Figure 65 : Rôle de la réponse du CNITV dans le traitement à donner aux chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=77 appels)

Dans une grande majorité des appels, 62 %, les conseils des permanents du CNITV ont totalement été à l'origine de la prise en charge thérapeutique des chiens suspects d'intoxication. Dans ces cas précis aucune ou de très légères mesures thérapeutiques avaient été mises en place par le vétérinaire lors du contact du centre antipoison, qui a donc été réalisé peu après la consultation de l'animal. De plus dans 18% des suspicions le recours au CNITV a eu pour conséquence de compléter un traitement déjà instauré par un praticien. Ainsi dans un peu plus de 80 % des appels reçus par ce centre antipoison suite à une probable consommation de mycotoxines trémorigènes par un chien, le traitement de ce dernier a au moins en partie été influencé par les conseils du personnel spécialisé en toxicologie vétérinaire.

16 % des appelants avaient d'ores et déjà instauré un traitement symptomatique et décontaminant adapté au moment du contact du CNITV, aucune mesure curative supplémentaire ne leur a donc été conseillée dans ces cas. Enfin suite à 2 appels seulement, aucun traitement n'a été conseillé par les permanents du centre antipoison.

b) Évolution

Au moment du contact du CNITV par des vétérinaires praticiens pour des chiens suspectés d'avoir pu ingérer des mycotoxines trémorigènes, la connaissance de l'issue de ces intoxications n'était connue que dans les cas où les animaux étaient déjà guéris ou morts. Ainsi lors de deux appels seulement l'évolution de l'animal a été désignée comme « non favorable » par le CNITV, ces deux communications faisant référence aux 2 chiens dont le vétérinaire a contacté le centre antipoison postérieurement à leur décès. Les 75 autres fiches V-Tox®, soit 97 % d'entre elles, mentionnaient une évolution « inconnue » pour l'animal au moment de la communication téléphonique.

Cette étude rétrospective a été en grande partie réalisée sur les mêmes suspicions que l'étude prospective consistant à rappeler les vétérinaires quelques jours après leur contact initial du CNITV. L'évolution de ces cas d'intoxication est connue pour 65 des 77 appels analysés dans ce travail rétrospectif, celle-ci sera détaillée dans la partie (Partie II ; III) B) 1)).

B) Étude prospective

77 appels ont été pris en compte dans l'étude prospective menée de Mars 2021 à Avril 2022 au CNITV, 68 des vétérinaires à l'origine de ceux-ci ont pu être rappelés et 65 ont accepté de répondre au questionnaire à la base de cette étude. Ces 65 rappels concernaient 69 chiens suspectés d'avoir été victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes.

1) Évolution des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes

1. Taux de létalité

Sur les 65 vétérinaires rappelés, 62 connaissaient le dénouement de l'intoxication pour un total de 66 animaux. Ceux-ci ont en effet été en mesure de signaler si le ou les chiens atteints avaient survécu à la présumée intoxication. Les 3 cas où les praticiens n'ont pas pu attester que l'animal en question était, ou non, toujours en vie au moment du rappel correspondaient tous à des scénarios où les chiens avaient été présentés en consultation, mais n'avaient pas été hospitalisés.

Sur les 66 chiens dont le sort était connu, 5 sont décédés ou ont été euthanasiés par leurs vétérinaires en raison de souffrances intenses ou de la présence de graves séquelles. Précisément 1 de ces chiens était déjà mort au moment de l'appel au CNITV, ce dernier est mort 11 h après son entrée en hospitalisation. Un autre est mort naturellement 11 h après sa consultation initiale par un vétérinaire. Enfin les 3 autres ont été euthanasiés respectivement 2 h, 48 h et 8 jours après le début de leur hospitalisation dans une clinique vétérinaire. Ainsi aucun chien n'est décédé naturellement plus de 11 h après sa consultation par un vétérinaire dans cette étude.

En comptant les animaux euthanasiés dans le nombre total des animaux décédés, le taux de létalité de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans cette étude a été de 8 % (5/66).

2. Taux de rémission et délai de récupération

Sur les 66 chiens pour lesquels l'issue de l'intoxication était connue, la présence ou l'absence d'une rémission totale des symptômes était connue pour 60 d'entre eux, soit 91 %. Les 6 cas où celle-ci n'a pas pu être renseignée par le vétérinaire rappelé correspondaient à des animaux non hospitalisés, ou n'ayant pas encore été revus par les praticiens depuis leur sortie d'hospitalisation au moment du rappel.

Une rémission totale correspond à un retour de l'animal à son état initial précédant la supposée intoxication aux mycotoxines trémorigènes, et donc à la disparition de tous les symptômes apparus chez le chien. Celle-ci a été mentionnée pour 52 animaux sur les 60 concernés ce qui correspondait à un taux de rémission totale de 87 % pour cette intoxication. Les 8 autres animaux étaient soit morts ou avaient été euthanasiés suite à ce probable empoisonnement dans 8 % (5/60) des suspicions, ou présentaient toujours au moins une séquelle lors du rappel de leur vétérinaire pour 5 % (3/60) d'entre eux.

Le temps nécessaire pour obtenir une rémission totale des symptômes, chez les chiens ayant entraîné la sollicitation du CNITV, a été demandé aux praticiens lors du rappel. Cette durée correspond à

l'intervalle de temps entre la première consultation de l'animal par le vétérinaire et le retour de celui-ci à son état initial, avec disparition de tous les symptômes apparus. Dans cette étude les appels émanaient de vétérinaires ayant quasiment tous mis en place des mesures thérapeutiques afin de limiter les effets du toxique sur l'animal, ainsi le délai de récupération décrit dans ces résultats est à interpréter uniquement dans le cadre de chiens recevant des traitements médicaux visant à améliorer leur état. La Figure 66 présente la répartition par catégorie, des différents délais de récupération observés au cours de ce travail prospectif :

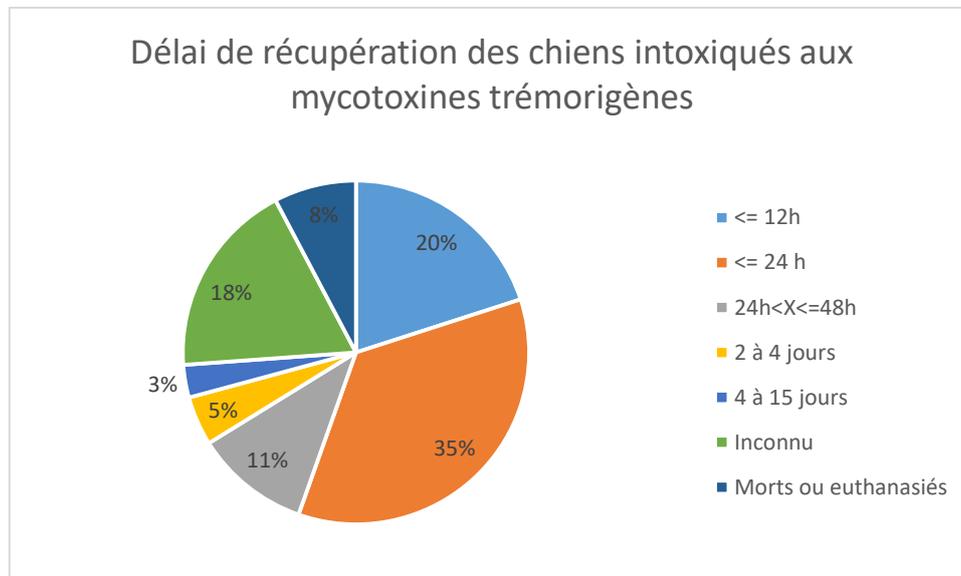


Figure 66 : Délai de récupération des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Le délai de disparition des symptômes était connu pour 82 % des appels, sachant de plus que pour 8 % d'entre eux, correspondant à des animaux ayant succombé à leur intoxication, celui-ci n'a pas été mesurable. Un délai de récupération inférieur à 12 h a été observé dans 20 % des appels, une durée de celui-ci entre 12 et 24 h a cependant été plus fréquente car elle a été mentionnée par 35 % des appelants. Ainsi dans 55 % des cas d'intoxication suspectés de cette étude les chiens ont retrouvé leur état initial en moins d'un jour après leur prise en charge thérapeutique par un vétérinaire. Cette durée a aussi été supérieure à 24 h mais inférieure à 48 h pour 11 % des appels. La présence de symptômes chez les chiens probablement intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes, plus de 2 jours après leur présentation à un vétérinaire a été rare dans cette étude avec 5 % et 3 % des appels mentionnant un délai de récupération de respectivement 2 à 4 jours et 4 à 15 jours. Néanmoins ces deux derniers pourcentages sont probablement légèrement sous évalués car parmi les temps d'évolution favorable inconnus, 4 faisaient référence à des cas où l'animal avait été rendu à ses propriétaires avec des symptômes, ou avait encore présenté des troubles lors de la visite de contrôle. Les vétérinaires ont alors mentionné une durée minimale de celui-ci avec les valeurs suivantes : [48 h, 3 jours, 3 jours, 5 jours].

3. Séquelles

La présence ou l'absence de séquelles chez les chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes a fait l'objet d'une question dans le questionnaire prospectif. Pour 8 % des appels celles-ci ne sont pas évaluables en raison de la mort des animaux, de plus cette persistance de symptômes à long terme chez l'animal était également inconnue dans 9 % des rappels.

Dans une très grande majorité de cas une absence totale de séquelles a été mentionnée. En effet celle-ci a été citée par 79 % des praticiens recontactés quelques jours après leur appel initial au CNITV. Seuls 3 vétérinaires, soit 5 %, ayant participé à l'étude ont mentionné la présence d'au moins une séquelle chez le chien suspecté d'intoxication. Ces résultats sont représentés sur la Figure 67 ci-dessous :

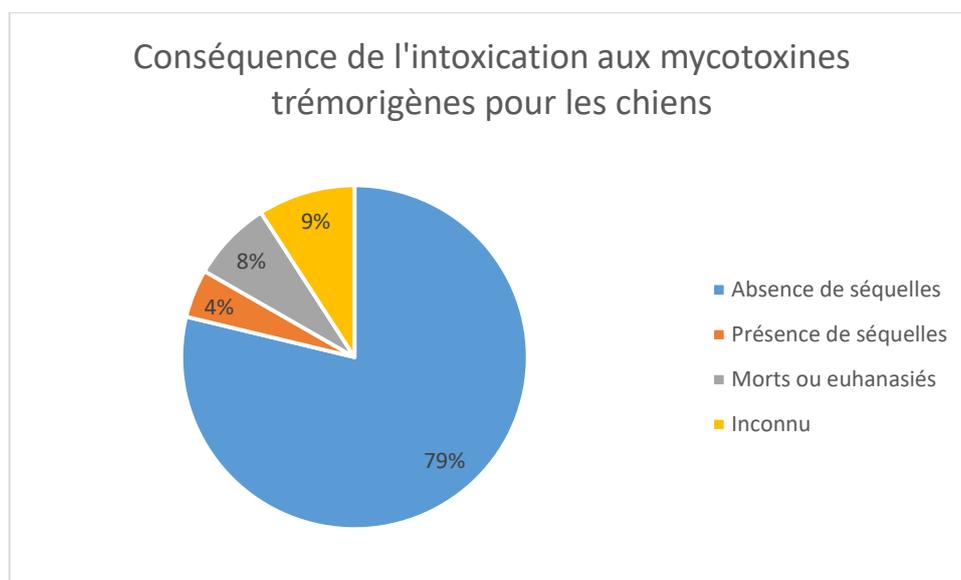


Figure 67 : Fréquence de séquelles pour des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Les 3 contextes de mention de séquelles ont été les suivants :

- Le vétérinaire recontacté 5 jours après l'appel initial au CNITV a signalé de légers tremblements persistants chez l'animal lorsque celui-ci a été rendu à ses propriétaires, après 3 jours d'hospitalisation faisant suite à la présentation initiale de l'animal. Il est néanmoins tout à fait possible que ceux-ci aient rétrocedé à postériori.

-Le second cas mentionnant des séquelles faisait référence à un chien ayant été hospitalisé 3 jours durant lesquels les troubles nerveux ont cessé. Néanmoins lorsque celui-ci a quitté la clinique vétérinaire une diarrhée était encore persistante. Le rappel du praticien ayant lui aussi eu lieu 3 jours après l'intoxication du chien, ce symptôme digestif a été mentionné comme une séquelle. Celle-ci a également pu rétroceder par la suite.

-La dernière mention de séquelle concernait un chien ayant été hospitalisé durant 11 jours en raison de la persistance d'une cystite bactérienne. Ce chien initialement présenté pour des troubles nerveux ayant rétrocedé en quelques jours à l'aide d'anti-convulsivants, a développé cette inflammation de la vessie au cours de son hospitalisation. Le vétérinaire suspectait fortement que celle-ci soit d'origine iatrogène car le chien avait subi un sondage urétral. Cette séquelle n'était donc très probablement pas liée à l'effet des mycotoxines trémorigènes, et ne devrait dans ce cas pas être considérée comme telle.

Ainsi pour les chiens ayant survécu à leur probable intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans cette étude seuls 2 séquelles (de légers tremblements et une diarrhée) ayant de plus potentiellement disparu par la suite lors du retour du chien à domicile, ont été recensés.

Enfin bien que ce ne soient pas des cas d'intoxication inclus dans cette étude, un vétérinaire appelant a mentionné avoir déjà eu à traiter des chiens présentant des troubles neuro-musculaires suite à la consommation de noix moisies. Le premier avait conservé des tremblements généralisés durant un mois et le second présentait toujours de légers tremblements plus de 2 ans après l'épisode d'intoxication.

2) Prise en charge des animaux intoxiqués par les praticiens

1. Hospitalisation des animaux

a) Taux d'hospitalisation

Le taux d'hospitalisation des chiens, dont le vétérinaire a contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans cette étude, a été de 89 %. Ainsi sur 65 praticiens appelants 58 d'entre eux ont hospitalisé les animaux suite à leur consultation initiale. La décision de conserver l'animal à la clinique pouvait avoir eu lieu avant ou après la consultation du centre antipoison. Les 7 animaux étant retournés chez leur propriétaire immédiatement après la consultation initiale n'ont pas été hospitalisés en raison de l'absence de gravité que représentaient leurs symptômes pour 6 d'entre eux qui ne présentaient que des troubles digestifs et/ou de très légers troubles nerveux, ou du refus du propriétaire de laisser son chien en hospitalisation dans le dernier cas. Ces résultats sont représentés sur la Figure 68 ci-dessous :

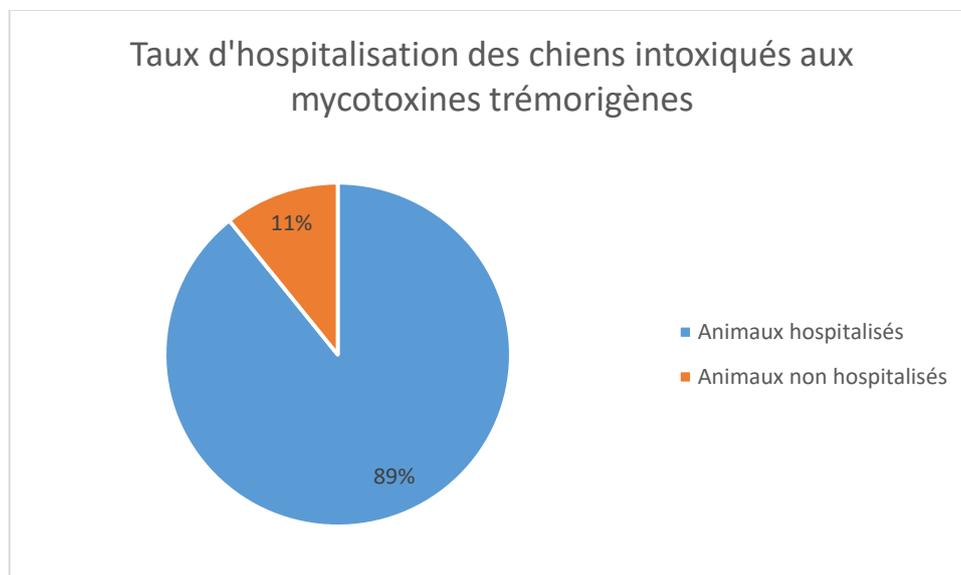


Figure 68 : Taux d'hospitalisation des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

b) Durée d'hospitalisation

La durée d'hospitalisation des animaux suspects d'intoxication a été demandée aux appelants lors des rappels, les résultats de l'étude statistique des réponses à cette question sont présentés dans la Figure 69 ci-dessous :

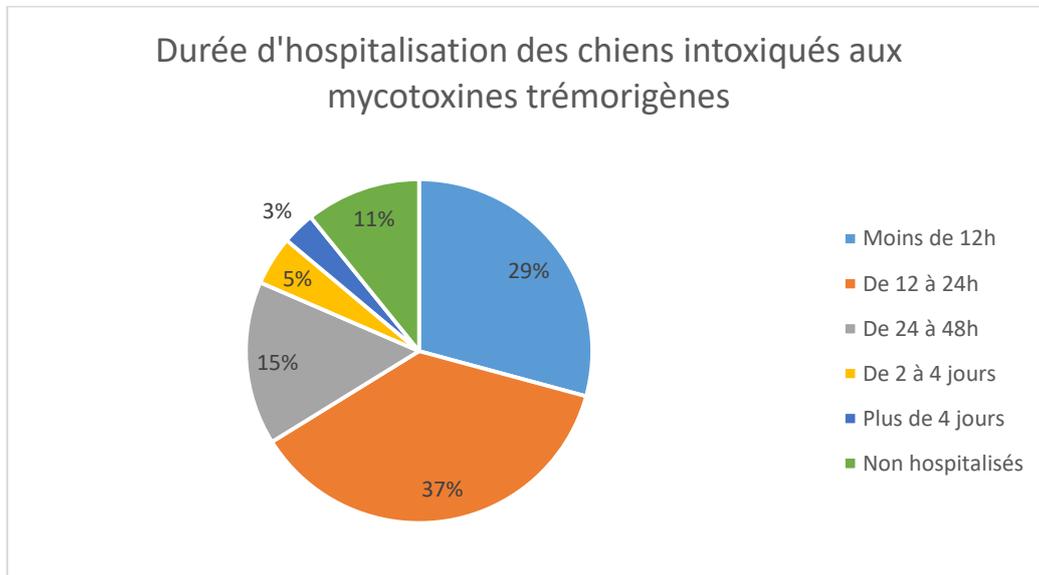


Figure 69 : Durée d'hospitalisation des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Comme le montre la figure précédente, dans 29 % des appels l'hospitalisation des animaux a duré moins d'une douzaine d'heures. Ces cas correspondaient majoritairement à des chiens amenés un soir en consultation chez un vétérinaire, gardés en hospitalisation la nuit et rendus à leurs propriétaires le lendemain matin sous réserve de rémission des symptômes, ou encore à des chiens admis en clinique le matin et rendus à leur propriétaire le soir même. Trente-sept pour cent des appelants ont mentionné une durée d'hospitalisation supérieure à 12 h mais inférieure à 24 h et 15 % d'entre eux un retour des animaux à domicile 1 à 2 jours après leur consultation initiale. Seuls 3 appelants ont signalé une hospitalisation de 2 à 4 jours pour des animaux dont les tremblements ont au moins persisté 72 h malgré une baisse de leur intensité. Enfin 2 vétérinaires ont évoqué des hospitalisations de plus de 4 jours : le premier cas concernait un chien très gravement atteint, au point d'être aveugle et de ne plus être en mesure de trouver sa gamelle dans sa cage, après 6 jours en hospitalisation et une tentative de retour à domicile l'animal a été euthanasié en raison de la non amélioration de son état. Le second cas était celui d'un chien gardé en hospitalisation durant 11 jours en raison d'une cystite neutrophilique développée suite à un sondage urinaire.

La durée d'hospitalisation n'était pas toujours égale à la durée d'évolution des symptômes, en effet dans la mesure où dans ce type d'intoxications des troubles nerveux et digestifs pouvaient persister plusieurs jours sans pour autant engager le pronostic vital de l'animal, un retour du chien à domicile en présence de ceux-ci était possible. Précisément dans cette étude 39 % des praticiens vétérinaires ont signalé avoir rendu l'animal à son propriétaire en présence d'au moins 1 symptôme chez celui-ci. En majorité ces symptômes étaient constitués d'une légère ataxie ou de légers tremblements musculaires n'empêchant pas l'animal d'interagir avec son environnement, de s'abreuver ou de se nourrir. Dans de plus rares cas l'animal souffrait encore d'une diarrhée lors de sa sortie d'hospitalisation.

2. Traitements administrés

a) Nature des traitements

Dans la seconde partie du questionnaire téléphonique proposé aux praticiens ceux-ci étaient amenés à détailler brièvement les mesures thérapeutiques mises en place pour traiter l'animal depuis sa consultation initiale jusqu'à la fin de son hospitalisation, voire même au-delà lors du retour des chiens à domicile si des traitements étaient à poursuivre par les propriétaires. Les principales mesures thérapeutiques mises en place par les praticiens interrogés dans cette étude sont présentées dans le Tableau XXX ci-dessous.

Tableau XXX : Principales mesures thérapeutiques mises en place par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Traitement	Pourcentages des appels concernés
Traitement éliminatoire	63 %
Induction de vomissements	9 %
Administration de charbon végétal activé	54 %
Administration de laxatifs	2 %
Usage d'émulsions lipidiques intraveineuses	8 %
Traitement symptomatique	95 %
Mise sous perfusion intraveineuse	89 %
Administration d'anti-convulsivants	72 %
Administration de pansements digestifs	19 %
Administration d'un anti vomitif	20 %

Traitements éliminatoires :

Un traitement éliminatoire a été mis en place par 63 % des vétérinaires, parmi ces mesures de décontamination digestive l'administration de charbon végétal activé par voie orale a été de très loin la plus fréquente puisque légèrement plus de la moitié des appelants (54 %) y ont eu recours. Celle-ci a toujours été initiée par les vétérinaires et a parfois été poursuivie par les propriétaires jusqu'à 2 jours après la sortie d'hospitalisation. La fréquence d'administration de cet adsorbant a été variable, néanmoins dans la majorité des cas une administration toutes les 4 à 6 h, comme recommandée par le CNITV, a été effectuée. L'induction de vomissements par usage d'apomorphine n'a été réalisée que dans 9 % des appels. L'usage de laxatifs pour favoriser l'élimination fécale du toxique a été anecdotique puisqu'elle n'a été réalisée que par 1 seul appelant, qui a administré de l'huile de paraffine au chien victime de symptômes. Enfin l'utilisation de la voie intraveineuse pour permettre la décontamination des animaux grâce à l'usage ELI a été effectuée par 5 vétérinaires uniquement.

Traitements symptomatiques :

A l'exception de 3 animaux non hospitalisés, tous les autres ont reçu un traitement symptomatique, soit 100 % des animaux hospitalisés. Cinquante huit des 65 appelants ont signalé avoir mis les chiens suspects d'intoxication sous perfusion de fluides isotoniques (Ringer lactate ou NaCl 0,9 %) après la pose d'une voie veineuse. En tenant compte du fait que les animaux non hospitalisés représentent 7 appels, cela signifie que 100 % des animaux gardés en clinique vétérinaire pour une administration de soins en continu, ont été mis sous perfusion.

La mise en place de mesures thérapeutiques visant à lutter contre la présence et la persistance des symptômes de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes a été dirigée en très grande majorité

contre les troubles neuro-musculaires et digestifs des chiens. Ces traitements sont détaillés ci-dessous :

-Traitements des troubles neuro-musculaires :

72 % des vétérinaires rappelés ont administré des molécules aux propriétés anti convulsivantes aux chiens intoxiqués. Sachant que 62 de ces appels concernaient des chiens victimes de troubles neurologiques, le taux de traitement de ces troubles a été de 76 % (47/62) par les praticiens questionnés dans cette étude, les cas non traités étant souvent constitués de légères ataxies ou tremblements sans gravité. Au contraire lors de la présence de convulsions ou de trémulations musculaires généralisées, des anti-convulsivants ont été utilisés dans près de 100 % des cas. Le détail des molécules employées est exposé dans le Tableau XXXI ci-dessous :

Tableau XXXI : Anti-convulsivants utilisés par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Molécule anti-convulsivante	Pourcentage des appels concernés	
	Bolus intraveineux	Autre voie ou mode d'administration
Diazépam	65 % (42/65)	8 % (5/65) en IR, 2 % (1/65) en CRI
Midazolam	3 % (2/65)	3 % (2/65)
Phénobarbital	5 % (3/65)	3 % (2/65)
Pentobarbital	8 % (5/65)	2 % (1/65)
Dexmédétomidine	3 % (2/65) IV ou IM	
Médétominide	15 % (10/65) IV ou IM	
Kétamine	6 % (4/65) IV ou IM	
Propofol	2 % (1/65) IV ou IM	
Acépromazine	2 % (1/65) IV ou IM	
Lévétiracetam	2 % (1/65)	0 %

De nombreuses molécules anti convulsivantes ont été utilisées par les praticiens questionnés dans cette étude. Le diazépam utilisé en bolus intraveineux a été de très loin le traitement le plus utilisé dans cette étude en cas de présence de convulsions ou de tremblements généralisés. Soixante-cinq pour cent des praticiens ont en effet eu recours à cette molécule, sous forme de bolus intraveineux, dans le traitement des intoxications aux mycotoxines trémorigènes. De plus 2 praticiens seulement ont utilisé ce principe actif uniquement par voie rectale, au total cette molécule a donc été utilisée dans 68 % des appels. Enfin 3 vétérinaires ont administré à la fois des bolus de cet anti-convulsivant par voie veineuse et par voie rectale, et 1 autre a mis en place une CRI de diazépam après un premier bolus intraveineux.

L'autre représentant des benzodiazépines a été utilisé beaucoup plus rarement dans cette étude, et uniquement lorsque les vétérinaires l'ayant utilisé exerçaient leur activité dans des structures importantes avec des services entiers dédiés à l'urgence. En effet le midazolam a fait partie du traitement instauré par 4 praticiens, sous la forme de CRI dans 2 plans thérapeutiques et de bolus intraveineux pour les 2 autres utilisations. Quant au lévétiracetam, celui-ci n'a été employé que par 1 seul appelant sous forme de bolus intraveineux. Lorsqu'elles ont été utilisées, ces 2 molécules ont été administrées comme seul agent anti-convulsivant et en première intention.

Les barbituriques ont été globalement peu utilisés par les cliniciens questionnés : le phénobarbital injectable a été employé par 8 % des praticiens dont 3 fois sous forme de bolus intraveineux et deux fois sous forme de CRI. Le pentobarbital a lui aussi été injecté par 8 % des appelants, directement par voie intraveineuse à 5 reprises et également sous forme de CRI dans un de ces mêmes cas. Dans 100 % des cas où un barbiturique a été utilisé par un vétérinaire questionné dans cette étude, celui-ci a été injecté suite à un manque d'efficacité d'un bolus de diazépam. De plus de nombreux appels reçus au CNITV pour une intoxication aux mycotoxines trémorigènes au cours de cette étude ont été émis suite à cette inefficacité du diazépam dans la diminution des convulsions et des tremblements, le conseil du centre antipoison dans ces cas était alors en général de recourir à d'autres molécules anti-convulsivantes dont notamment les barbituriques.

Dans 19 % des appels les vétérinaires ont également eu recours à l'utilisation d'un α 2-agoniste, la molécule utilisée a été de la médétomidine à 10 reprises et de la dexmédétomidine pour les 2 autres cas. Celles-ci ont été employées pour 2 raisons distinctes : certains praticiens y ont eu recours pour stopper ou atténuer les convulsions et/ou tremblements de l'animal intoxiqué suite à l'inactivité du diazépam et d'autres uniquement afin de tranquilliser l'animal pour pouvoir permettre la pose d'une voie veineuse.

Des anesthésiques dissociatifs ont aussi été utilisés dans la lutte contre les troubles neuro-musculaires, la kétamine a été employée par 4 vétérinaires et à chaque fois en association avec un α 2-agoniste ou de l'acépromazine. De même le seul praticien ayant eu recours au propofol l'a administré simultanément à de la médétomidine.

Au bilan les résultats de cette étude ont indiqué que le diazépam est de très loin la molécule la plus utilisée et la première instaurée dans la lutte contre les troubles neuro-musculaires par les vétérinaires Français. Le recours à d'autres molécules a en général été lié à l'inefficacité de ce principe actif, sauf dans les cas d'administration de midazolam et de levetiracetam.

-Traitement des troubles digestifs :

Concernant les troubles digestifs, le traitement symptomatique des vomissements par l'injection d'une substance anti émétique a été mentionné à 13 reprises, soit par 20 % des vétérinaires rappelés. Dans 11 de ces cas le principe actif utilisé était du citrate de maropitant, et lors des 2 derniers le nom du médicament utilisé n'a pas été spécifié. L'administration d'un pansement digestif a été rapportée par 12 praticiens, soit lors de 19 % des rappels, et 6 d'entre eux ont précisé le nom commercial du médicament utilisé, qui était du Phosphaluvet® pour 3 de ces derniers et de l'Ulcar® pour les 3 autres. Les principes actifs de ces 2 médicaments sont respectivement le phosphate d'aluminium et le sucralfate. Bien que le sucralfate soit souvent considéré comme un agent anti ulcéreux et non un pansement digestif, il a été comptabilisé comme tel dans cette étude statistique.

-Autres traitements symptomatiques :

En plus des traitements précédemment cités, certains chiens suspectés d'avoir été contaminés par des mycotoxines trémorigènes et dont le vétérinaire a contacté le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 se sont vu administrer d'autres agents thérapeutiques présentés dans le Tableau XXXII suivant. Toutes ces mesures thérapeutiques pouvaient être considérées comme rarement mises en place car elles n'ont concerné au maximum que 8 % des appelants.

Tableau XXXII : Autres mesures thérapeutiques mises en place par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Traitement effectué	Pourcentage des appels concernés
Administration d'un morphinique	8 % (5/65)
Administration d'un diurétique	6 % (4/65)
Administration d'un hépato protecteur	6 % (4/65)
Administration d'un anti acide digestif	5 % (3/65)
Administration d'un antibiotique	5 % (3/65)
Administration d'un corticoïde	6 % (4/65)
Administration de compléments alimentaires	3 % (2/65)
Administration de vitamine B1 et B6	2 % (1/65)
Administration de N-acétylcystéine	2 % (1/65)
Réalisation d'un lavage buccal	2 % (1/65)

L'utilisation d'un morphinique a été décrite dans 5 plans thérapeutiques, la molécule utilisée a été du butorphanol à 3 reprises, de la morphine et de la méthadone à une seule occasion chacune. Ces agents antalgiques ont été employés soit simultanément au diazépam dans la lutte contre les convulsions, soit uniquement dans un but de diminution de douleur, à posteriori de l'usage de premières molécules anti-convulsivantes.

6 % des vétérinaires ont eu recours à l'usage de diurétiques dans la gestion de l'intoxication afin de favoriser l'élimination urinaire du toxique, la molécule utilisée a été du furosémide dans 3 de ces cas. Le même nombre de praticiens a également utilisé des anti inflammatoires stéroïdiens et des hépatoprotecteurs.

Des anti acides digestifs ont été donnés par 3 appelants différents au cours de l'hospitalisation des animaux, les 3 substances utilisées étaient de l'oméprazole, du pantoprazole et de la cimétidine. Un traitement antibiotique des animaux atteints a été mis en place pour 3 animaux également, deux d'entre eux ont en effet reçu de l'amoxicilline couplée à de l'acide clavulanique tandis que le dernier s'est vu administrer de la marbofloxacine par voie injectable. De plus 2 vétérinaires ont aussi administré des gélules d'Ultradiar®, compléments alimentaires composés d'un mélange de charbon végétal activé, de montmorillonite et de probiotiques, aux chiens intoxiqués.

Enfin certaines mesures thérapeutiques comme l'administration de N-acétylcystéine, de vitamine B1 et B6 ou encore la réalisation d'un lavage buccal n'ont été rapportées qu'à une seule reprise chacune lors des descriptions des plans thérapeutiques des vétérinaires rappelés dans cette étude.

b) Durée des traitements

La durée d'administration des traitements à visée de décontamination n'a été de l'ordre que de quelques minutes pour l'induction de vomissements, et de quelques minutes à quelques heures lors de l'utilisation d'ELI. En revanche celle de l'administration de charbon végétal activé a été très variable selon le cas. En effet si certains praticiens l'ont administré à une seule reprise, la grande majorité d'entre eux ont répété cette administration toutes les 4 à 6 h durant toute la période d'hospitalisation. Certains ont même chargé les propriétaires de continuer ce traitement pendant 1 à 2 jours à domicile. Ainsi lors de son utilisation cet adsorbant a été en moyenne administré sur une période de 24 à 48 h.

La durée d'administration des différents traitements symptomatiques et de soutien des grandes fonctions par les vétérinaires rappelés au cours de cette étude a été très variable et ceci s'explique par plusieurs raisons. Premièrement la durée d'administration des traitements symptomatiques est toujours très dépendante du délai de rémission de chaque type de signes cliniques. En ce qui concerne les troubles neurologiques et musculaires : la durée des convulsions et des tremblements généralisés intenses ayant elle-même été très changeante d'un cas à l'autre, la durée d'administration des molécules anti-convulsivantes l'a également été. De manière synthétique les animaux dont les troubles nerveux ont fortement diminué ou disparu suite à la première administration de ces agents thérapeutiques, ont généralement reçu de un seul à quelques bolus intraveineux uniquement et sont sortis d'hospitalisation dans la journée ou le lendemain de leur consultation initiale. Pour les animaux dont les convulsions et les trémulations musculaires ont été réfractaires aux anti-convulsivants et en particulier au diazépam, le recours à différentes molécules thérapeutiques, voir à la mise en place de CRI de celles-ci, a considérablement rallongé la durée du traitement. Ainsi plusieurs vétérinaires ont mentionné des durées de CRI entre 8 h et 3 jours, la majorité d'entre elles ayant duré aux alentours de 24 h. Les bolus d'anti-convulsivants ayant eu besoin d'être répétés ne concernaient en général que ceux de diazépam, en effet en cas d'inefficacité de ces derniers les praticiens étaient alors amenés suite aux conseils du CNITV à utiliser d'autres familles de molécules en bolus ou en CRI qui permettaient parfois la diminution en intensité des convulsions et des tremblements. Ainsi aucun chien n'a reçu des bolus de molécules anti convulsivantes sur une durée supérieure à 2 jours.

Enfin concernant les troubles digestifs peu de praticiens recontactés après leur appel initial au CNITV ont mentionné la durée des traitements à visée digestive. Néanmoins les anti vomitifs ont très souvent uniquement été administrés durant l'hospitalisation ou la consultation initiale des animaux. La durée de maintien des animaux sous pansements digestifs a par contre quasiment toujours été supérieure à celle de l'hospitalisation, lors de leurs rares cas d'utilisation. En effet de manière presque systématique lorsqu'un protecteur de la muqueuse digestive a fait partie des moyens thérapeutique de lutte contre les effets du toxique, celui-ci a été prescrit par le vétérinaire à l'animal durant quelques jours après sa sortie d'hospitalisation.

c) Réponses des animaux aux traitements administrés

Dans cette partie, seuls les effets observés suite à l'administration des anti-convulsivants et des ELI seront présentés en détail. Les conséquences de la mise en place d'une réhydratation par voie veineuse n'étaient effectivement pas réellement observables dans la mesure où peu des chiens intoxiqués dans cette étude étaient dans un réel état de déshydratation lors de leur présentation à un vétérinaire. Concernant les traitements digestifs administrés, aucune mention d'une inefficacité d'une substance émétique ou anti émétique n'a été mentionnée par un vétérinaire lors des rappels. De plus les effets des traitements anti acides ou des pansements digestifs étaient difficilement évaluables cliniquement car la rémission de ces symptômes s'est souvent étalée sur plusieurs jours et s'est généralement achevée chez les propriétaires.

Les réponses des animaux aux traitements anti-convulsivants et aux ELI, observées par les vétérinaires recontactés, sont analysées ci-après. En aucun cas il ne s'agit d'une évaluation de l'efficacité clinique ou thérapeutique d'un de ces traitements. En effet une étude expérimentale avec témoins (positifs et placebos), menée si possible en double aveugle, est nécessaire pour évaluer l'efficacité d'une mesure thérapeutique. De plus, les réponses aux traitements observées dans notre étude, ne concernaient qu'un nombre restreint de cas cliniques. Les pourcentages déterminés ne reflètent donc pas une

caractéristique des différents moyens thérapeutiques utilisés. Enfin il est tout à fait possible qu'une amélioration de l'état de l'animal suite à l'administration d'un anti-convulsivant ou d'ELI, ne soit pas liée à celle-ci mais juste à une évolution favorable naturelle. Toutes ces raisons ont pour conséquence que ce sont essentiellement les échecs de traitement qui ont été recensés dans notre étude. Ceux-ci faisant ici référence à une absence de diminution des troubles neuro-musculaires suite à l'administration d'un principe actif ou à la mise en place d'une mesure thérapeutique.

Réponses des animaux suite à l'administration d'ELI :

L'effet des émulsions lipidiques sur les chiens intoxiqués a été assez complexe à observer car celles-ci ont uniquement été utilisées simultanément à d'autres traitements dont notamment des anti-convulsivants. De plus seuls 5 vétérinaires sur les 65 rappelés y ont eu recours dans cette étude et seules les descriptions du déroulement de l'intoxication de 4 d'entre eux ont permis d'évaluer partiellement les conséquences de ce traitement éliminatoire. Ainsi dans 2 de ces cas les ELI ont été administrées conjointement à un bolus ou à une CRI de midazolam, les convulsions des deux chiens en question ont rapidement cessé mais leurs tremblements ont persisté au moins un jour après cette administration. Les 2 autres usages de ce traitement décontaminant ont été réalisés suite à des échecs d'effet de bolus de diazépam sur des animaux en convulsions et ont été suivis d'une nette diminution des crises convulsives et des tremblements. Néanmoins ce traitement a dû être arrêté pour un de ces 2 animaux chez lequel des vomissements se sont déclarés, rien ne prouve cependant que ceux-ci étaient directement liés à cette administration. Le taux d'échec des ELI dans l'objectif de diminution des crises convulsives a donc été de 0 % (0/4) dans cette étude et de 50 % (2/4) dans l'objectif de diminution des trémulations musculaires.

Réponses des animaux suite à l'administration de traitements anti-convulsivants :

La réponse des chiens aux traitements anti-convulsivants a été étudiée pour tous les principes actifs utilisés par les praticiens au cours de cette étude. Sur les 44 appelants ayant eu recours à l'usage de diazépam par voie intraveineuse ou rectale, l'observation de l'effet de cet agent thérapeutique sur l'animal a été rapportée par 34 de ces vétérinaires. Vingt d'entre eux ont décrit que les convulsions et les trémulations musculaires des chiens avaient totalement ou fortement diminué en intensité, relativement rapidement après l'administration de cette benzodiazépine. En revanche dans les 14 autres cas les praticiens ont décrit une très faible ou l'absence d'atténuation des troubles neuro-musculaires des chiens intoxiqués, soit un taux d'échec d'effet observé pour cette molécule de 41 % (14/34). Plusieurs de ces appelants ont d'ailleurs contacté le CNITV suite à l'inefficacité de cette molécule dans le but de diminution des troubles neuromusculaires des animaux.

Lorsque d'autres benzodiazépines que le diazépam ou des pyrrolidines ont été utilisées, celles-ci l'ont été sans l'usage simultané d'autres principes actifs anti-convulsivants. Ainsi le seul vétérinaire ayant eu recours à un bolus de lévétiracetam a mentionné une forte diminution des tremblements et des convulsions chez l'animal suite à l'administration de ce produit. Sur les 4 vétérinaires ayant eu recours au midazolam, 3 d'entre eux ont pu témoigner de l'évolution de l'animal à posteriori de son administration, le dernier ayant référé l'animal le suivi n'a pas pu être effectué. Deux de ces 3 utilisations (l'une en bolus et l'autre en CRI) ont été suivies d'une diminution des crises convulsives mais n'ont pas entraîné une réduction de l'intensité des tremblements des chiens intoxiqués. Lors de ces utilisations des ELI avaient été administrées simultanément. Dans le dernier cas un bolus intraveineux de midazolam n'a entraîné la diminution d'aucun trouble neuro-musculaire.

Les $\alpha 2$ -agonistes n'ont jamais été utilisés comme seuls agents thérapeutiques par un vétérinaire dans le but de réduire les troubles neuro-musculaires, et les 12 praticiens y ayant eu recours les ont employés en majorité suite à une administration préalable de diazépam. Pour les 8 cas où ces

molécules ont été injectées sans injection simultanée d'un agent dissociatif, 6 observations de l'évolution des animaux ont été obtenues lors des rappels. Dans la moitié d'entre elles l'injection de ces anesthésiques a été suivie d'une diminution nette des troubles neuro-musculaires, alors que dans les trois autres les praticiens ont signalé une absence d'effet au niveau des convulsions ou des tremblements des chiens, malgré la capacité de ces molécules à endormir les animaux pour une durée de quelques heures. Lors de l'injection simultanée de kétamine en association avec la médétomidine suite à l'absence d'effet de bolus de diazépam, 1 vétérinaire a rapporté une diminution des troubles neuro-musculaires et 1 autre une absence de changement dans les symptômes présentés par le chien. L'unique usage d'acépromazine conjointement à la kétamine et au diazépam a lui été suivi d'une forte atténuation des troubles neuro-musculaires, au contraire de la seule utilisation de propofol en association avec du diazépam et de la médétomidine qui a entraîné une période sommeil de 90 minutes pour l'animal sans diminuer ses convulsions ou tremblements.

Enfin concernant les barbituriques, ces derniers ont uniquement été utilisés suite à des échecs d'effet du diazépam dans la diminution des troubles nerveux. Sur les 4 observations de l'évolution des animaux suite à l'emploi du phénobarbital, 2 ont décrit une diminution des signes cliniques nerveux, celles-ci correspondaient à des administrations sous forme de CRI de ce principe actif. En revanche lors des 2 administrations de cette molécule sous forme de bolus une persistance de l'intensité des troubles nerveux a été rapportée par les vétérinaires. Le taux d'échec d'effet du phénobarbital dans la diminution des signes neuromusculaires en CRI a donc été de 0 % et celui en bolus de 100 %. L'évolution des animaux après une injection de pentobarbital a elle aussi été décrite par 4 praticiens recontactés. Deux d'entre eux ayant utilisé cet anti-convulsivant uniquement sous forme de bolus intraveineux ont témoigné de la diminution des tremblements et convulsions des animaux traités. Lors d'un autre cas cette injection intraveineuse s'est révélée sans effet, mais la mise en place postérieure d'une CRI avec ce même principe actif a été suivie par une rémission rapide des symptômes de l'animal. Enfin lors d'une intoxication sévère qui s'est finalement conclue par la mort de l'animal un praticien a néanmoins signalé une diminution des crises convulsives et des tremblements du chien suite à un bolus de pentobarbital, alors que des injections intraveineuses de diazépam, phénobarbital, kétamine et médétomidine s'étaient révélées sans effet sur cet animal. Ce barbiturique a donc eu un taux d'échec observé de diminution des troubles neuro-musculaires de 25 % pour les bolus intraveineux et de 0 % lors de son seul usage en CRI dans cette étude.

Le Tableau XXXIII ci-dessous résume les taux d'échec de diminution des troubles neuromusculaires des chiens, observés dans cette étude suite à l'administration de chaque anti-convulsivant :

Tableau XXXIII : Taux d'échec de diminution des troubles nerveux des traitements anti-convulsivants administrés pour des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022

Molécules anti convulsivantes	Mode d'administration	Taux d'échec dans le traitement des troubles neuro-musculaires	
Lévétiracetam	IV	0 % (0/1)	
Diazépam	IV (+- IR)	41 % (14/34)	
Midazolam		Échec dans le traitement des convulsions	Échec dans le traitement des tremblements
	IV	50 % (1/2)	100 % (2/2)
	CRI	0 % (0/1)	100 % (1/1)
Phénobarbital*	IV	100 % (0/2)	
	CRI	0 % (0/2)	
Pentobarbital*	IV	25 % (1/4)	
	CRI	0 % (0/1)	
Dexmédétomidine ou Médétomidine*	IV ou IM	50 % (3/6)	
Médétominide + Kétamine*	IV	50 % (1/2)	
Acépromazine + Kétamine*	IV	0 % (0/1)	
Propofol + Médétomidine*	IV	100 % (1/1)	

*Un bolus de diazépam en IV a pu être administré simultanément à ces molécules.

3) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

1. Origine de la suspicion

Dans ce paragraphe nous évoquons la « suspicion de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes » par des vétérinaires praticiens. Dans cette étude la majorité des vétérinaires rappelés a suspecté la responsabilité d'un aliment moisi ou de mycotoxines non spécifiques. La connaissance du terme de « mycotoxine trémorigène » n'étant pas très fréquente parmi les praticiens, cette formule est ici utilisée dans un souci de simplicité, la connaissance de ce toxique au sein de la profession sera abordée dans la partie (Partie II ; III B) 5))

Les vétérinaires ayant à l'origine contacté le CNITV pour un chien potentiellement intoxiqué aux mycotoxines trémorigènes ont été questionnés sur l'origine de leur suspicion. Précisément il leur a été demandé quels ont été les éléments les ayant entraîné à penser que ces métabolites fongiques pouvaient être responsables des symptômes observés chez les chiens qui leurs avaient été présentés. Comme le montre la Figure 70 ci-dessous une grande majorité des praticiens, 58 %, a signalé que cette suspicion de toxique a uniquement été liée au récit de l'anamnèse du propriétaire de l'animal. Ces derniers ont en effet fréquemment relaté une possible consommation d'un aliment moisi ou de compost par leur chien quelques heures avant l'apparition des signes cliniques. Pour plus d'un quart des vétérinaires (28 %) ce sont à la fois l'anamnèse, les symptômes présentés par le chien et l'épidémiologie qui ont permis la suspicion de ce toxique. Ainsi dans ces cas précis les troubles neuromusculaires ont généralement fait suspecter un toxique à toxicité nerveuse aux praticiens. De plus les aspects épidémiologiques de ces atteintes nerveuses en fonction de leur saison d'occurrence, de

l'apparition de plusieurs cas similaires à une même période de l'année pour des animaux ayant ou non fréquenté les mêmes lieux ou étant issus d'un même foyer, ont parfois indiqué une origine toxique des symptômes aux vétérinaires. En revanche les signes cliniques à eux seuls n'ont été à l'origine que de la suspicion de l'implication des mycotoxines trémorigènes pour 8 % des praticiens rappelés. Enfin 3 des vétérinaires recontactés n'avaient pas eux même suspecté la responsabilité des mycotoxines trémorigènes ou d'un substrat alimentaire moisi lors de leur appel au CNITV, le permanent leur avait alors mentionné la possibilité de responsabilité de ces métabolites dans l'état de l'animal. Néanmoins dans ces 3 cas si les praticiens ont commis la démarche de contacter un centre antipoison ces derniers avaient alors forcément suspecté une potentielle origine toxique des symptômes présentés par le chien. Enfin pour un seul animal la réalisation d'un examen d'imagerie médicale, à savoir un scanner, a permis la détection de noix dans l'estomac de l'animal et a donc entraîné une suspicion d'intoxication aux noix moisies.

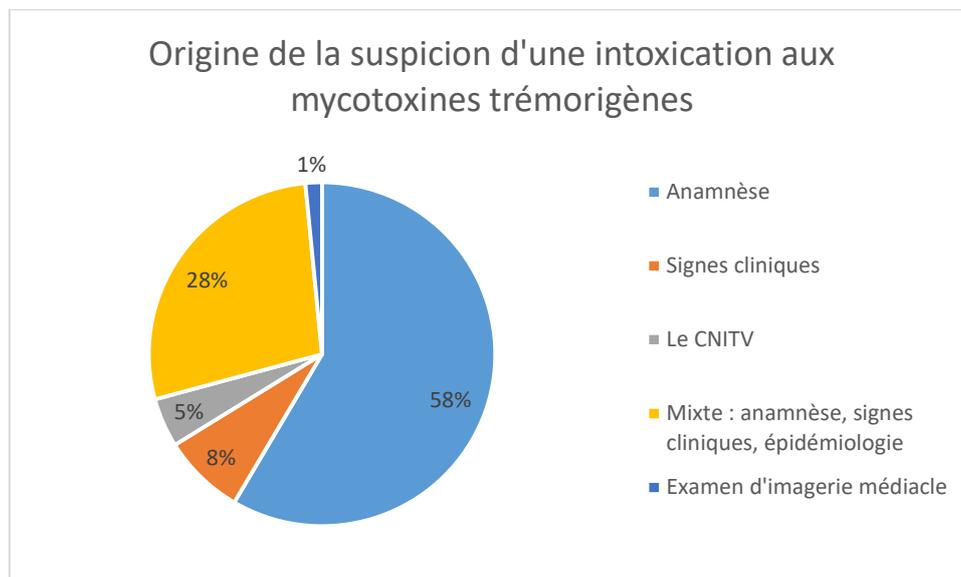


Figure 70 : Origine de la suspicion d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez des vétérinaires ayant contacté le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Bien qu'ils aient pu avoir lieu après la suspicion préalable du vétérinaire ou du propriétaire d'une consommation d'un aliment moisi ou de compost, les vomissements et l'analyse de leur contenu ont été très informatifs pour les praticiens, lorsque ces derniers ont eu lieu. Ainsi comme le montre la figure 71 ci-dessous dans 40 % des appels l'analyse du contenu des vomissements des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes a permis de certifier la consommation alimentaire de compost, d'un aliment ou de noix moisies. Ainsi 4 appelants sur 10 ont pu affirmer la consommation d'un substrat potentiellement source de métabolites fongiques neurotoxiques uniquement par l'analyse des substances émétiques de l'animal. Parmi eux certains praticiens ne disposaient que de très peu d'informations sur le passé de l'animal, mais l'examen des vomissements spontanés ou induits, par le vétérinaire ou le propriétaire, a pu être l'élément spécifique ayant entraîné la très forte suspicion de consommation d'un substrat moisi ou de compost. Dans les cas d'ingestions de noix moisies les vétérinaires ont souvent rapporté la présence de coquilles de noix, ou de noix entières dans un contenu digestif liquide noirâtre. Dans le cas de consommations d'un autre aliment moisi la détermination de la nature du substrat a également souvent été possible grâce à la reconnaissance de certains aliments spécifiques au sein des vomissements. Enfin la majorité des praticiens ayant jugé les substances émétiques comme preuve d'une consommation d'un aliment moisi ont rapporté une odeur nauséabonde et une couleur blanche, verte ou noire de ces dernières.

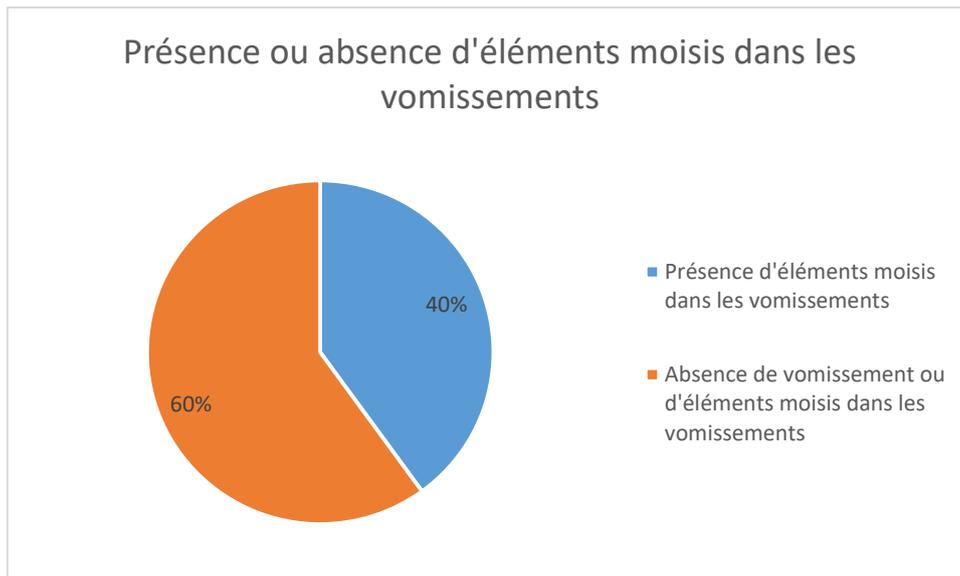


Figure 71 : Analyse du contenu des vomissements de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines au CNITV entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

L'anamnèse a donc été l'élément ayant le plus souvent permis au vétérinaire de suspecter une consommation d'un aliment altéré, de compost ou de noix moisies par l'animal. En dehors de l'analyse du contenu des vomissements par le propriétaire, les praticiens ont généralement mentionné d'autres parties du récit de l'anamnèse leur ayant été utiles dans leur formulation d'hypothèse diagnostique. Les réponses des praticiens ont été regroupées en catégories présentées sur la Figure 72 ci-dessous :

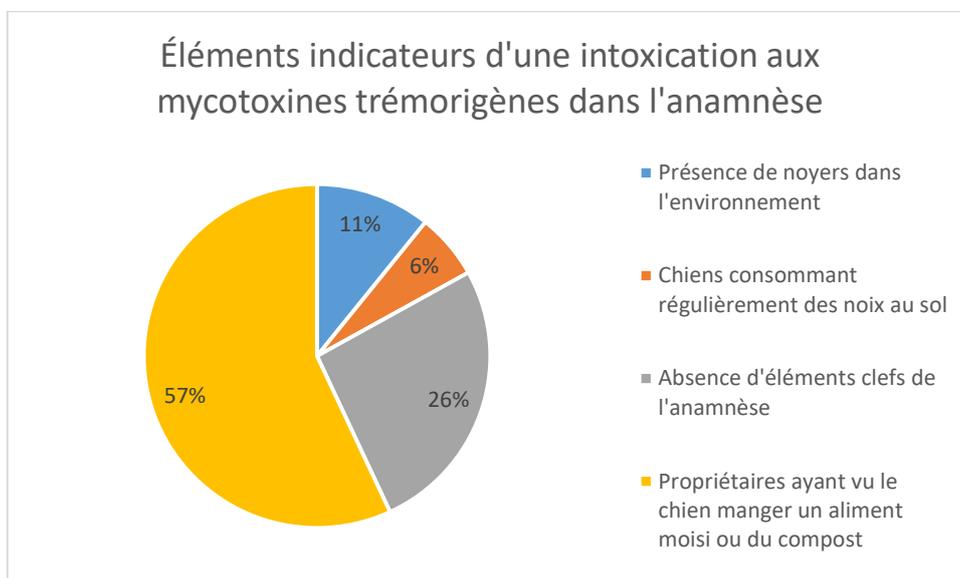


Figure 72 : Éléments de l'anamnèse indicateurs d'une probable consommation de mycotoxines trémorigènes par des chiens ayant entraîné un appel au CNITV entre Mars 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Ainsi dans 57 % des rappels les propriétaires ont rapporté au vétérinaire avoir vu eux-mêmes le chien manger des noix moisies, du compost ou un aliment altéré. Dans ces cas précis la description des dernières heures de l'animal a été très influente dans le diagnostic différentiel des praticiens. De plus certains propriétaires ont rapporté la présence d'un ou plusieurs noyers dans le milieu de vie du chien (en particulier dans le jardin familial) ou la consommation fréquente de noix tombées au sol par

l'animal, dans respectivement 11 % et 6 % des appels. Ces déclarations faisaient souvent suite à des questions posées par les vétérinaires, orientant la description du comportement alimentaire habituel de l'animal et de la composition de son environnement. Ces deux descriptions ont également entraîné les vétérinaires à suspecter la possible responsabilité des noix moisies et des mycotoxines, pouvant s'y développer, dans l'atteinte de l'animal leur étant présenté. Enfin dans 26 % des appels, aucun élément dans la description du passé de l'animal par son propriétaire n'a permis d'indiquer au vétérinaire une potentielle exposition orale à un substrat source de mycotoxines trémorigènes.

En résumé, dans cette étude la suspicion par les vétérinaires de la responsabilité des mycotoxines trémorigènes dans les troubles présentés par les chiens atteints, a été très dépendante de la présence d'éléments anamnestiques indiquant une possible exposition de l'animal à un aliment moisi, dans le récit du propriétaire. La présence de cas répétés ou d'intoxications multiples et la présence de symptômes neuro-musculaires ont également aidé certains praticiens à suspecter ce toxique mais dans une moindre mesure. Enfin l'analyse du contenu des vomissements, lorsqu'elle a été possible, s'est révélée extrêmement informative sur la nature des denrées alimentaires consommées par les animaux et cruciale pour la suspicion des mycotoxines trémorigènes lors de nombreux cas d'intoxication.

2. Diagnostic différentiel

Pour 37 des 65 vétérinaires rappelés, une intoxication par voie orale liée à la consommation d'un aliment moisi, de compost ou de noix tombées au sol était leur seule hypothèse diagnostique. Ainsi 43 % des vétérinaires avaient au moins songé à une autre cause pouvant expliquer les symptômes du chien ayant entraîné le contact du CNITV. Celles-ci sont présentées dans le Tableau XXXIV ci-dessous :

Tableau XXXIV : Diagnostic différentiel de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes des vétérinaires ayant contacté le CNITV entre Février 2021 et Mars 2022

Causes toxiques (nombres de mentions si supérieures à 1)
Autre toxique non déterminé (7) ; organochlorés (3) ; cannabis (3) ; carbamates ; inhibiteur de cholinestérase ; organophosphorés ; insecticide non spécifique ; pesticide ; houx ; églantier ; rhizome d'iris ; convulsivant non spécifique ; rodenticides ; médicaments humains contre l'épilepsie ; métaldéhyde ; champignons non spécifiques ; fruits de mer ; chenilles processionnaires ; toxine botulique ; toxine non spécifiée
Causes non toxiques (nombres de mentions si supérieures à 1)
Tumeur (2) ; shunt porto systémique (2) ; maladie d'Aujeszky ; pancréatite ; cystite ; épilepsie ; gastrite ; méningite

Comme le montre le Tableau XXXIV les hypothèses diagnostiques incriminant un toxique ont été près de 3 fois plus nombreuses que les autres. Ces résultats montrent que la gamme des autres substances nocives suspectées est très vaste étant donné qu'elle comprend des pesticides, des plantes, des denrées alimentaires, des toxines, des rodenticides et des champignons. De même dans le cas des suspicions de causes non toxiques des suspicions d'atteinte des appareils digestif, nerveux et urinaire ont été émises, et leurs causes sont tout aussi variées avec des origines tumorales, infectieuses, inflammatoires, congénitales et idiopathiques. Aucune étiologie spécifique n'a été mentionnée à plus

de 3 reprises dans les 28 diagnostics différentiels, ainsi dans cette étude aucune autre cause n'a fréquemment été suspectée par les vétérinaires appelants.

De nombreuses autres causes des symptômes présentés par les chiens intoxiqués ont donc été suspectées dans cette étude, néanmoins dans plus de la moitié des cas l'ensemble des informations à disposition du vétérinaire a eu pour conséquence que la probable consommation d'une source de mycotoxines trémorigènes était leur unique hypothèse diagnostique.

4) Épidémiologie de l'intoxication

1. Répétition de cas d'intoxication sur une même période

a) Zone à risque

Afin de déterminer si des secteurs géographiques de plus petite taille que des départements étaient fortement propices à la consommation de substrats source de mycotoxines trémorigènes par des chiens, il a été demandé aux praticiens vétérinaires si d'autres chiens de leur clientèle avaient par le passé déjà été victimes d'une intoxication à ce même toxique.

47,7 % des vétérinaires recontactés avaient d'ores et déjà au moins une fois été confrontés à une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes dans leur clientèle actuelle. À peine plus de praticiens, 49,2 %, n'avaient au contraire jamais eu à faire face à un tel cas. Enfin 2 appelants ne se souvenaient plus s'ils avaient déjà été confrontés à ce type d'intoxication.

b) Période à risque

Lors de leur rappel, les 31 vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'exposition canine aux mycotoxines trémorigènes et ayant signalé avoir déjà été confrontés à une telle intoxication ont été questionnés au sujet des périodes d'occurrence de celle-ci. En effet il leur a été demandé de préciser si ces intoxications avaient eu lieu récemment ou durant la même saison les années précédentes. À quoi, 61 % (19/31) d'entre eux ont signalé avoir eu à soigner un animal pour le même motif quelques jours à quelques semaines avant leur appel au CNITV.

De plus 48 % (15/31) de ces vétérinaires ont déclaré que des cas similaires se produisaient en général à la même période les années précédentes, contre 23 % (7/31) qui ont signalé ne pas avoir déjà dû à gérer de telles intoxications à la même période les années passées. Enfin 9 praticiens, soit 29 % (9/31) d'entre eux, ne se souvenaient plus si les cas ressemblants des années précédentes avaient eu lieu durant les mêmes mois.

c) Animal à risque

Afin de vérifier si le comportement et les conditions de vie de certains animaux rendaient bien plus probable son intoxication par une source de mycotoxines trémorigènes il a été demandé aux vétérinaires lors de leur rappel si les chiens, ayant entraîné le contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, avaient par le passé déjà été victimes de la même intoxication. Aucun d'entre eux n'a cependant mentionné le cas d'un animal intoxiqué plus d'une fois à ce toxique.

2. Fréquence de l'intoxication

Les praticiens recontactés au cours de cette étude ont été amenés à estimer la fréquence de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes. Quatre propositions de réponses leur étaient proposées : « très rare », « rare », « moyennement fréquente » et « courante ». De plus il leur a été demandé si celle-ci était ou non saisonnière. Malgré qu'il s'agissait pour 52,3 % des praticiens rappelés, de leur première confrontation à une intoxication due à ce toxique, et de ce fait qu'ils aient souvent jugé difficile de répondre à cette question, tous ont formulé une réponse. Leurs réponses sont décrites dans la Figure 73.

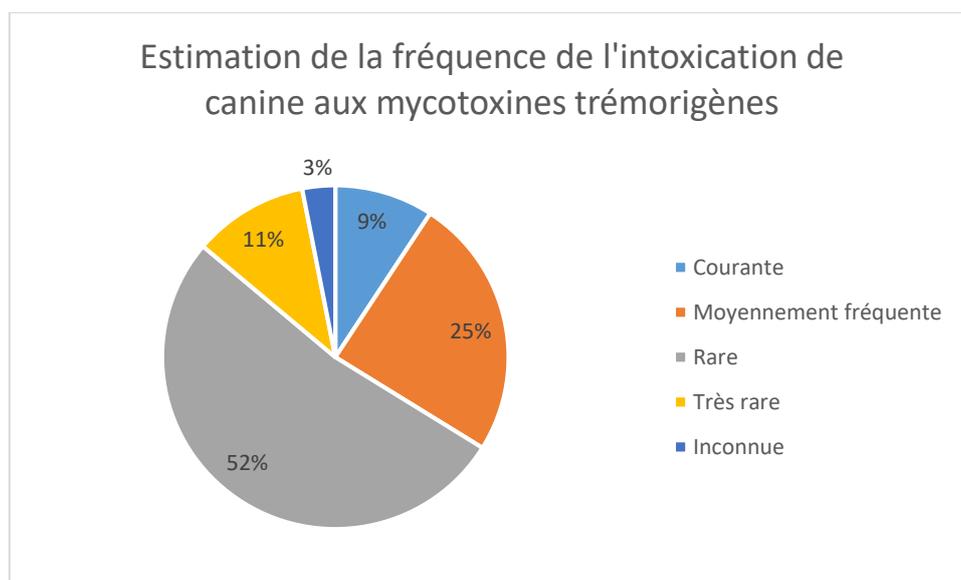


Figure 73 : Estimation de la fréquence de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une telle intoxication entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

La majorité des appelants, 52 %, a jugé cette intoxication comme rare, et 11 % d'entre eux l'ont même signalée comme très rare. Un quart des vétérinaires l'ont estimée comme moyennement fréquente (25 %) et seuls 6, soit 9 % de ceux-ci, l'ont décrite comme courante. Enfin uniquement 28 % vétérinaires ont considéré cette intoxication comme saisonnière.

5) Connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leurs effets toxiques par les vétérinaires

Afin d'évaluer la connaissance de l'existence des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité au sein de la profession vétérinaire, les praticiens recontactés au cours de cette étude ont été questionnés spécifiquement à ce sujet.

1. Connaissance des mycotoxines trémorigènes

Tous les praticiens vétérinaires ayant répondu au questionnaire téléphonique avaient initialement contacté le CNITV pour un chien suspecté d'avoir été intoxiqué. De plus un des 2 toxiques

« Mycotoxines NP » ou « Noyer » avait été mentionné sur la fiche V-Tox[®] correspondante à l'appel. Au cours de leur rappel ces professionnels de la santé animale devaient répondre à la question : « Connaissez-vous les mycotoxines trémorigènes avant l'appel au CNITV ? ». Comme le montre la Figure 74, 52 % des praticiens ont répondu positivement à cette question. Ainsi 48 % des vétérinaires appelants, soit près de la moitié d'entre eux, n'avaient pas connaissance du terme « mycotoxines trémorigènes » avant le contact du centre antipoison vétérinaire. La majorité de ces derniers n'avait jamais appris l'existence de ces métabolites fongiques neurotoxiques, et une poignée seulement avait conscience de l'existence de ces mycotoxines et de leurs effets mais ne connaissait simplement pas la terminologie.

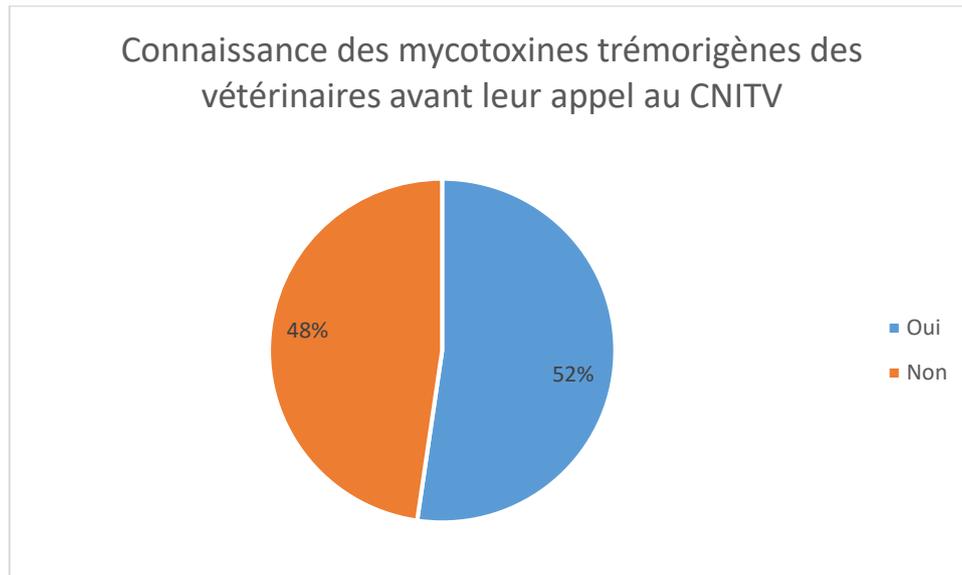


Figure 74 : Connaissance des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

2. Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes

a) Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine

Suite à la question portant sur la connaissance de l'existence des mycotoxines trémorigènes il a été demandé aux praticiens si ceux-ci avaient conscience de leur possible toxicité pour l'espèce canine. Cinquante-sept pour cent des appelants ont répondu qu'ils savaient déjà que celles-ci pouvaient être responsables d'intoxications canines. Les 3 appelants supplémentaires en comparaison aux 34 vétérinaires ayant signalé connaître l'existence de ces mycotoxines et leur nom, correspondaient aux praticiens qui connaissaient l'existence et la toxicité de ces métabolites fongiques mais qui n'avaient jamais entendu le terme de « mycotoxines trémorigènes ». De plus aucun appelant ne connaissait ce toxique pour son rôle dans des intoxications concernant d'autres espèces animales que le chien. Ainsi 43 % des vétérinaires ayant contacté le CNITV pour des chiens finalement suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes n'avaient ni connaissance de la toxicité, ni du nom des métabolites suspectés d'être responsable des troubles présentés par les animaux à la fin de l'appel. Néanmoins l'anamnèse, l'épidémiologie et les signes cliniques des animaux ont suffi à motiver un appel au CNITV, ce qui signifiait que ces praticiens suspectaient une origine toxique des symptômes. Dans la très grande majorité de ces cas la consommation d'un aliment altéré ou de compost avait été rapportée au

vétérinaire qui a alors commis la démarche de contacter un centre de toxicologie vétérinaire, car celui-ci suspectait la présence d'une substance toxique au sein de ces substrats. Ces résultats sont résumés sur la Figure 75.

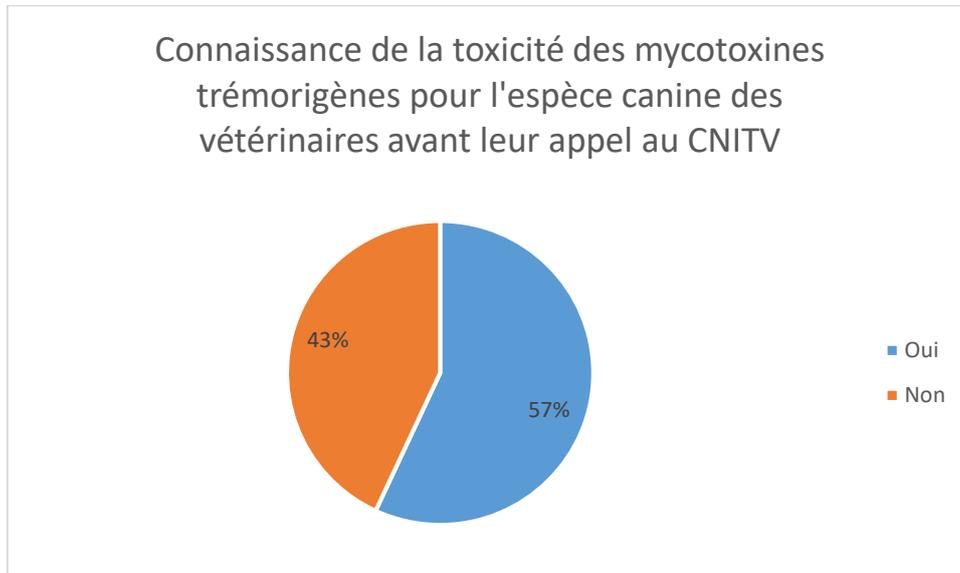


Figure 75 : Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

b) Connaissance de la toxicité des noix moisies

Après avoir questionné les appelants sur leurs connaissances au sujet de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine, il leur a été demandé s'ils avaient conscience que la consommation de noix moisies pouvait engendrer des intoxications dans cette même espèce. L'analyse des réponses à cette question est présentée dans la Figure 76 ci-après.

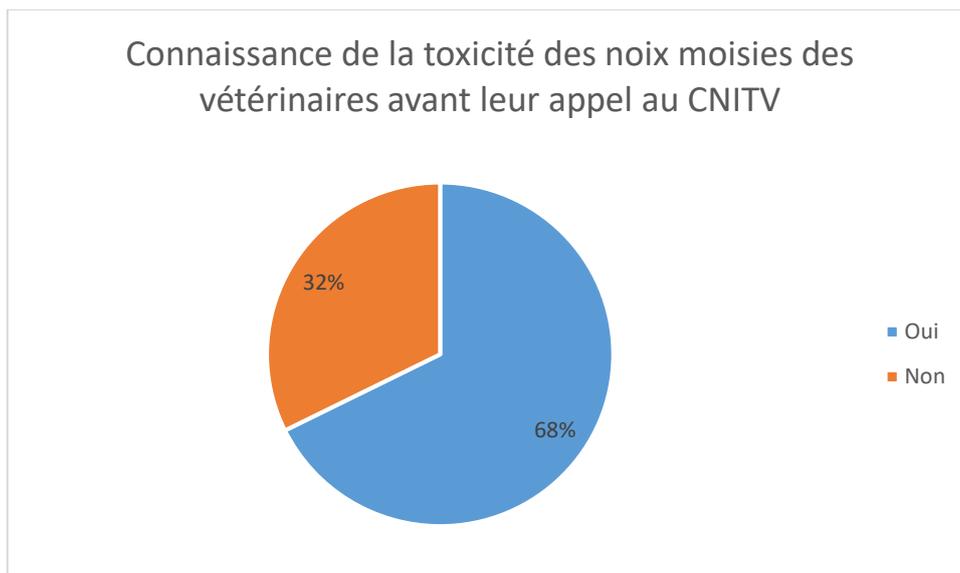


Figure 76 : Connaissance de la toxicité des noix moisies par les vétérinaires avant leur contact du CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Comme le montre la figure précédente, 68 % des praticiens recontactés connaissaient la toxicité des noix moisies pour l'espèce canine, et 32 % n'en avaient pas conscience. Ainsi en comparant ces résultats à ceux de la question précédente il a été conclu que 7 vétérinaires avaient connaissance de la possibilité d'occurrence de symptômes neuro-musculaires chez un chien suite à sa consommation de noix moisies, mais ignoraient que ceux-ci étaient liés à la présence de mycotoxines neurotoxiques synthétisées par des espèces de moisissures spécifiques.

3. Évaluation des connaissances acquises sur les mycotoxines trémorigènes lors des études en école vétérinaire

Afin d'évaluer l'acquisition des connaissances des vétérinaires durant leurs études au sujet de la toxicité des mycotoxines trémorigènes, la question suivante leur a été posée : « Pensez-vous avoir été assez informé lors de votre formation de vétérinaire sur l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ? ». Comme en témoigne la Figure 77 ci-dessous 88 % des praticiens ont estimé ne pas avoir été assez formé spécifiquement sur ce toxique au cours de leurs enseignements en école vétérinaire. Parmi eux étaient retrouvés les 28 vétérinaires n'ayant ni connaissance du nom de ce toxique, ni de l'existence de ces mycotoxines neurotoxiques, ainsi que 29 autres praticiens ayant quasiment tous justifié leur réponse par le fait que ce toxique était comme de nombreux autres juste évoqué durant la formation en toxicologie de leurs études. De nombreux appelants ont tout de même signalé que le temps s'étant écoulé depuis leurs études jusqu'à leur confrontation avec un premier cas clinique de ce type pouvait être très long, une durée de 31 ans a même été mentionnée lors d'un appel, et que ce dernier pouvait donc expliquer l'absence de souvenir de la mention de ce toxique dans leur formation. Enfin seuls 6 vétérinaires (soit 9 %) estimaient avoir été assez bien formés à la gestion des intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes).

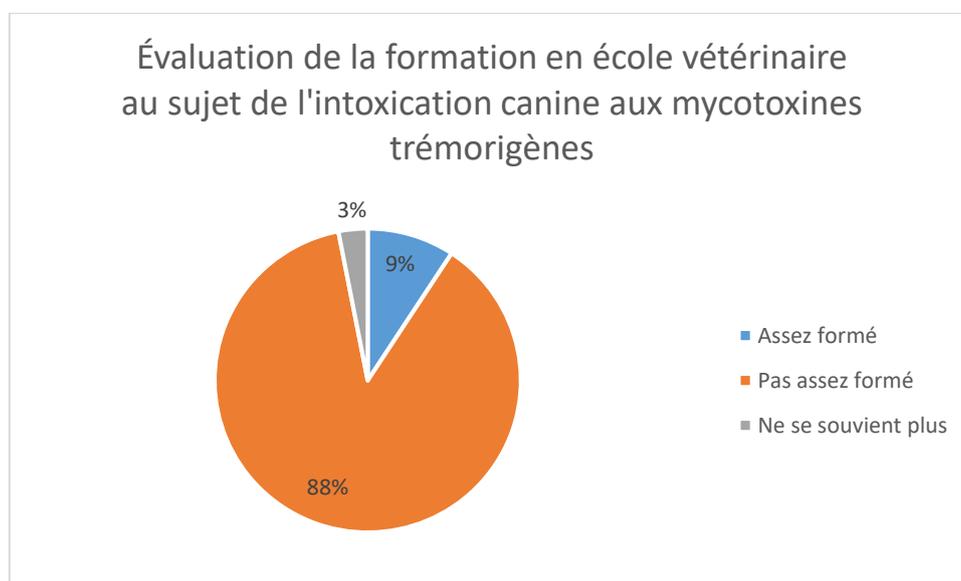


Figure 77 : Évaluation de la formation en école vétérinaire sur l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

4. Origine de la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité

Les 37 praticiens ayant mentionné connaître la toxicité des mycotoxines trémorigènes ont été questionnés sur l'origine de ce savoir. Précisément il leur a été demandé où, par qui ou par quels moyens, ils avaient acquis la connaissance de la toxicité de ces métabolites fongiques pour l'espèce canine. Ces derniers ont chacun cité entre 1 à 3 sources de leur apprentissage, pour un total de 60 origines. Celles-ci sont présentées sur l'histogramme suivant (Figure 78) :

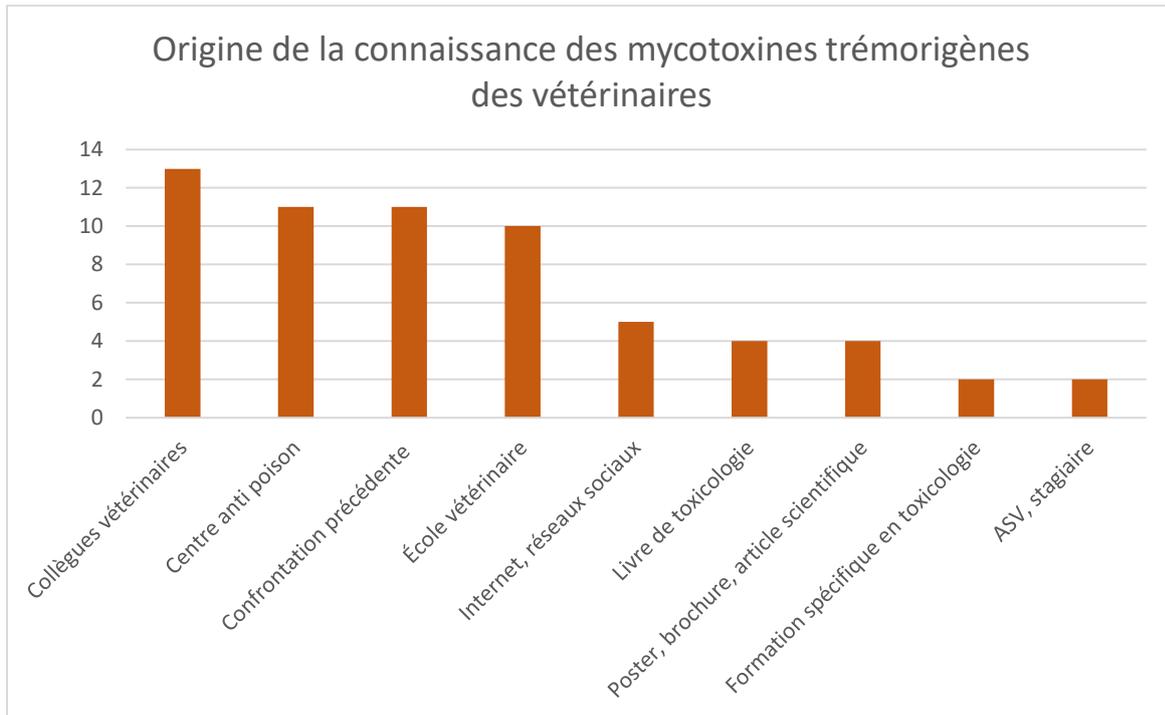


Figure 78 : Origine de la connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes des vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine à ce toxique entre Février 2021 et Mars 2022 (n=60 réponses)

4 origines ont été plus fréquemment citées que les autres (entre 10 et 13 fois) et regroupent 2 tiers des réponses. Les appelants ont en effet majoritairement signalé avoir appris cette toxicité lors d'une discussion avec un collègue, d'un contact téléphonique avec un centre antipoison vétérinaire, d'une confrontation précédente à une intoxication similaire ou lors de leurs études en école vétérinaire. Entre 4 et 5 mentions d'apprentissage de la connaissance des mycotoxines trémorigènes étaient issues d'internet (sites spécialisés en toxicologie, groupes vétérinaires sur les réseaux sociaux...), d'ouvrages dédiés à la toxicologie (guides pratiques de toxicologie vétérinaire, encyclopédies...) ou de publications scientifiques (posters, brochures, articles...). Enfin 2 praticiens ont aussi signalé connaître ce toxique suite à une formation spécifique en toxicologie et le même nombre d'entre eux a évoqué avoir connu la dangerosité de ces métabolites fongiques pour l'espèce canine de la part d'un stagiaire ou d'une assistante spécialisée vétérinaire ayant déjà été confrontés à une telle intoxication.

6) Évaluation de l'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

Dans la dernière partie du questionnaire les vétérinaires étaient amenés à répondre à 3 questions centrées autour de la réalisation et de l'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique lors de suspicions d'intoxications de chiens aux mycotoxines trémorigènes.

1. Certitude de l'origine des symptômes

Il a tout d'abord été demandé aux praticiens lors de leur rappel, soit en très grande majorité après la rémission totale des symptômes de l'animal, s'ils étaient à ce jour certains que des mycotoxines trémorigènes étaient à l'origine des symptômes dont le chien avait été victime. Comme le montre la Figure 79, 58 % des praticiens ont répondu « oui » à cette question. Parmi eux une grande majorité a signalé que cette certitude provenait du fait que le propriétaire du chien en question l'avait personnellement vu manger le substrat soupçonné de contenir des mycotoxines, ou encore de la découverte de moisissures ou de noix dans le contenu des vomissements. Concernant les 42 % des vétérinaires ayant signalé ne pas être certains de l'origine des troubles dont a été victime l'animal, plus de 3 quarts d'entre eux ont signalé ne pas avoir de certitude en l'absence de la réalisation d'analyses de laboratoire mais d'être personnellement convaincus de la responsabilité de ce toxique dans le cas d'intoxication ayant entraîné le contact du CNITV. Certains d'entre eux ont même signalé être « sûrs de 80 à 90 % » de l'implication des mycotoxines trémorigènes dans les troubles présentés par leurs patients. De manière générale dans cette étude, seuls les appelants ayant reçu des chiens en absence d'une anamnèse en faveur de la consommation d'un aliment altéré ou de compost, n'ont pas placé une intoxication aux mycotoxines trémorigènes largement en tête du classement de leurs hypothèses diagnostiques.

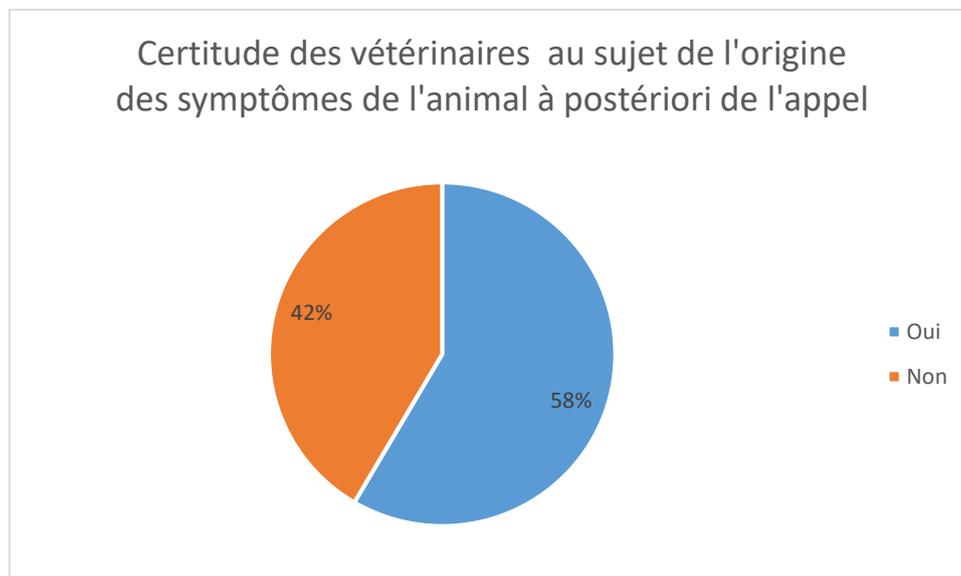


Figure 79 : Certitude des vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 au sujet de l'origine des symptômes de l'animal (n=65 appels)

2. Intérêt de l'analyse lors des cas recensés dans l'étude

Dans le cadre de la mise en place du dosage quantitatif du pénitrème A et de la roquefortine C dans les urines de chiens intoxiqués à Toxlab, et donc de la récente possibilité pour les vétérinaires Français d'obtenir un diagnostic de certitude de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Il a été demandé aux praticiens rappelés dans cette étude s'ils estimaient que la réalisation de cette analyse aurait eu, selon eux, un quelconque intérêt dans le cas ayant entraîné leur appel au CNITV. Comme en témoigne la Figure 80 ci-dessous, 62 % des praticiens ont répondu négativement à cette interrogation et 38 % positivement.

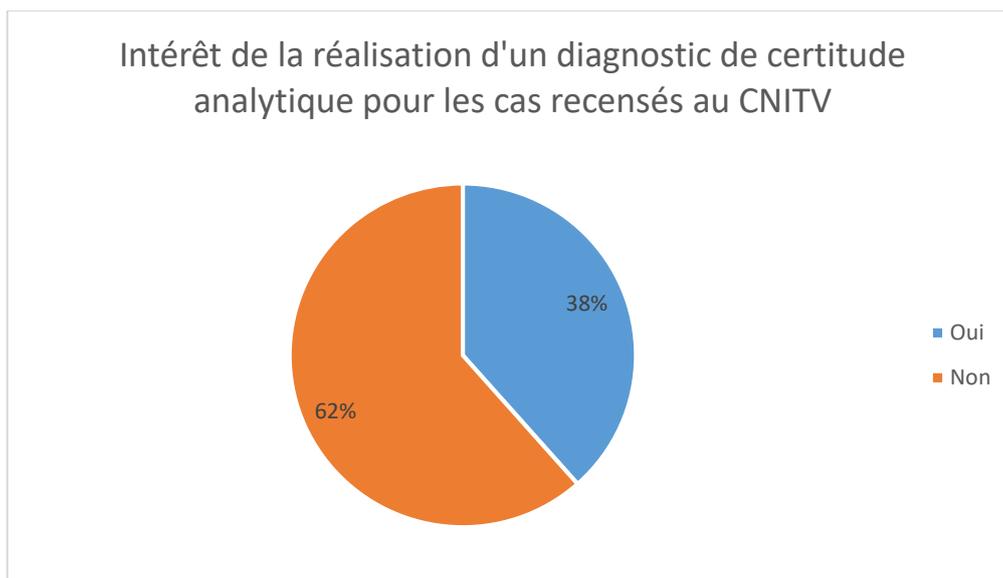


Figure 80 : Intérêt de la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique selon les vétérinaires lors de leur suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Les raisons de ces réponses positives ou négatives ont ensuite été demandées aux vétérinaires, celles-ci sont présentées dans le tableau XXXV suivant :

Tableau XXXV : Raisons de présence ou d'absence d'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique selon les vétérinaires ayant contacté le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes entre Février 2021 et Mars 2022 (n=65 appels)

Intérêt du diagnostic de certitude analytique (25)	Absence d'intérêt du diagnostic de certitude analytique (40)
Toujours intéressant d'obtenir un diagnostic de certitude (11)	Temps d'analyse non compatible avec la durée de d'évolution des symptômes (22)
Propriétaires très motivés pour la réalisation de l'analyse (8)	Déjà une certitude de l'origine des symptômes sans réalisation de l'analyse (12)
Possibilité d'exclusion d'autres hypothèses diagnostiques (2)	Absence d'antidote pour ce toxique, traitement symptomatique indépendamment des résultats de l'analyse (3)
Possibilité d'éviter la répétition de l'intoxication sur d'autres animaux (2)	Manque de moyens financiers des propriétaires (1)
Résultat très probablement positif au vu de la clinique selon le praticien (1)	Non justifié (2)
Intérêt en l'absence totale d'hypothèse (1)	

Concernant les praticiens ayant décrit l'existence d'un intérêt dans la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique lors de l'intoxication qu'ils ont eu à gérer : 11 d'entre eux ont formulé cette réponse car, selon eux, il était toujours intéressant d'avoir une preuve irréfutable de l'origine des troubles affectant un animal, 8 se sont justifiés en raison de la forte motivation des propriétaires dans la réalisation de toutes analyses et modalités de soins pour leur animal souvent liée à une forte inquiétude lors de la consultation. De plus si cette analyse avait été réalisée et s'était avérée positive elle aurait permis d'exclure d'autres hypothèses diagnostiques à 2 praticiens et aurait pu favoriser la vigilance des propriétaires par rapport à ce toxique afin d'éviter de nouvelles intoxications pour d'autres chiens du domicile ou des alentours, selon 2 autres cliniciens. Enfin 1 vétérinaire a mentionné que l'analyse aurait sûrement été positive en raison de la sévère atteinte de l'animal ce qui aurait donc augmenté son intérêt, et 1 autre a signalé que si le chien qu'il a eu à traiter n'avait pas vomi de noix aucune hypothèse diagnostique n'aurait été formulée de sa part, ainsi des analyses auraient pu lui permettre de découvrir l'étiologie de ces troubles.

Légèrement plus de la moitié des praticiens, n'ayant pas trouvé d'intérêt à la réalisation d'un dosage du pénitrème A et de la roquefortine C dans les urines des chiens intoxiqués (22 sur 40 soit 55 %), l'ont justifié en signalant l'incompatibilité du délai de réalisation de l'analyse, incluant le transport du prélèvement au laboratoire en plus du temps nécessaire à la réalisation de l'analyse, et de la durée d'évolution des symptômes de quelques heures à quelques jours seulement. Ainsi les animaux auraient d'ores et déjà été rétablis et seraient retournés chez leurs propriétaires lorsque le résultat de l'analyse aurait été reçu. L'analyse aurait donc été une dépense inutile car elle n'aurait rien apporté dans la prise en charge thérapeutique de l'animal. Dans la même idée 3 autres vétérinaires ont signalé ce manque d'intérêt en raison de l'absence d'antidote pour ce toxique, ainsi un traitement symptomatique avait été de toute façon d'ores et déjà mis en place, l'analyse n'aurait pas présenté d'intérêt. Douze appelants ont quant à eux signalé être déjà sûrs de l'origine des troubles de l'animal grâce à ses signes cliniques et l'anamnèse du propriétaire, l'analyse n'aurait donc fait que renforcer encore cette certitude. Ces appels correspondaient en majorité à des cas où le propriétaire avait vu l'animal consommer un aliment moisi ou que le contenu des vomissements avait été évocateur de l'ingestion d'un aliment moisi. Dernièrement 1 praticien a répondu négativement car il a signalé que les propriétaires du chien en question n'avaient pas les moyens de réaliser l'analyse, et 2 autres n'ont pas justifié leurs réponses négatives.

3. Volonté d'analyse des propriétaires

La dernière question posée aux praticiens lors de leur rappel consistait à leur demander si d'après leur expérience personnelle en clientèle, certains propriétaires de chiens souhaiteraient pouvoir réaliser cette analyse de détection des mycotoxines trémorigènes sur urine, afin de savoir si ces toxines sont bien responsables des troubles de leur chien dans le cadre d'une suspicion d'intoxication. Seuls deux vétérinaires ont répondu négativement à cette interrogation en signalant que l'analyse n'apportait aucun intérêt aux propriétaires en l'absence d'antidote, et qu'elle représenterait une importante dépense pour ceux-ci qui doivent en général déjà s'acquitter des frais d'une consultation d'urgence et de l'hospitalisation. Une écrasante majorité des praticiens recontactés dans cette étude 97 % a donc répondu que certains propriétaires seraient prêts à payer pour effectuer ces analyses. Néanmoins quasiment tous ont nuancé leurs propos en apportant une à plusieurs précisions à leur réponse positive, celles-ci sont présentées dans le Tableau XXXVI suivant :

Tableau XXXVI : Avis des vétérinaires sur la volonté des propriétaires dans la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique lors d'une suspicion d'intoxication de leur chien aux mycotoxines trémorigènes (n=68 précisions)

Précisions sur la volonté de réalisation d'un diagnostic de certitude analytique des propriétaires lors de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes	Nombre de mentions
Certains propriétaires demandeurs d'analyses seulement	16
Les propriétaires sont très demandeurs d'analyses dans le domaine de la toxicologie	15
Volonté dépendante du prix de l'analyse en question	10
Surtout des demandes d'analyses lors d'une suspicion d'un acte de malveillance	8
Plus de demande d'analyses dans les cas graves	7
L'analyse serait plus fréquemment réalisée si plusieurs toxiques étaient recherchés	7
L'analyse serait plus fréquemment réalisée si un test rapide au chevet de l'animal était disponible	5
La volonté serait renforcée en cas d'absence d'hypothèses diagnostiques, lors de symptômes peu spécifiques	5

Ainsi 16 praticiens ont nuancé leur réponse positive en signalant que seuls certains clients, et non tous, seraient sûrement intéressés et volontaires pour la réalisation du diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Une quinzaine a cependant mentionné que la majorité des propriétaires sont très demandeurs d'analyses dans le domaine de la toxicologie, en effet lors d'intoxications ceux-ci veulent à priori toujours savoir quelle substance pourrait être à l'origine de l'état de leur animal. Huit vétérinaires ont souligné que les demandes d'analyses de la part des propriétaires de chiens sont bien plus fréquentes lors de suspicions d'actes d'empoisonnement volontaire de leurs animaux par un tiers. De plus 7 praticiens ont précisé que leurs clients seraient sûrement plus enclins à la réalisation d'analyses lors des cas d'intoxications graves, et 5 autres que l'absence d'hypothèse diagnostique plausible de leur part pourrait pousser les propriétaires à vouloir effectuer des examens complémentaires pour trouver l'origine des troubles de leurs animaux.

10 vétérinaires ont cependant mentionné que le prix de l'analyse, non connu lors de l'étude, pourrait impacter la volonté des propriétaires dans la réalisation de l'analyse. En particulier si celle-ci s'avère trop onéreuse, cela pourrait dissuader certains de leurs clients dans sa réalisation.

Enfin plusieurs praticiens ont signalé que le mode de réalisation actuel de l'analyse impliquant la collecte d'un prélèvement urinaire, son transport et la pratique d'une analyse par un laboratoire externe présentait beaucoup d'inconvénients dans sa réalisation pratique. Précisément 5 d'entre eux ont signalé que la mise au point d'un test rapide au chevet de l'animal serait bien plus facile à utiliser et à proposer aux propriétaires. Et qu'un résultat très rapidement disponible en plus d'être intéressant pour la curiosité des clients, pourrait également avoir son intérêt dans la prise en charge thérapeutique de l'animal.

Enfin 7 appelants ont signalé que la recherche d'un seul toxique lors de la recherche des mycotoxines trémorigènes sur l'urine de chiens suspects d'intoxication est beaucoup moins intéressante à réaliser pour les propriétaires qu'une recherche simultanée de plusieurs toxiques convulsivants. En dans de nombreux contextes de troubles neuro-musculaires peu spécifiques affectant des chiens et en l'absence d'anamnèse, plusieurs substances à toxicité nerveuse peuvent être à l'origine des symptômes selon les praticiens. La recherche d'un seul de ces toxiques à la fois serait donc peu intéressante pour le propriétaire et le vétérinaire car elle aurait peu de chance d'aboutir. En revanche une analyse proposant la recherche des principales substances neurotoxiques fréquemment impliquées dans des cas d'intoxications canines présenterait, selon ces cliniciens, un très grand intérêt.

C) Étude analytique

1) Origine des échantillons urinaires analysés

Au cours de cette étude 4 échantillons urinaires ont pu être prélevés sur des chiens suspects d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, en vue d'un dosage quantitatif du pénitrem A et de la roquefortine C dans les urines de ces animaux. Trois de ces prélèvements ont été réalisés dans des cliniques vétérinaires par des praticiens ayant participé à l'étude prospective décrite précédemment. Le dernier échantillon urinaire était issu d'une chienne admise au service d'urgence et de soins intensifs du centre hospitalier universitaire vétérinaire de VetAgro Sup, pour une très probable intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Le Tableau XXXVII ci-dessous recense les informations sur l'origine des prélèvements et leurs modalités de réalisation.

Tableau XXXVII : Origine des échantillons urinaires de chiens suspects d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes analysés à Toxlab par LC-MS/MS

Référence de l'échantillon à Toxlab	22/0126	22/0138	22/0190	22/0195
Numéro du prélèvement	1	2	3	4
Structure vétérinaire ayant réalisé le prélèvement	Vétérinaire praticien dans le Morbihan (56)	Vétérinaire praticien dans les Pyrénées-Atlantiques (56)	SIAMU de VetAgro Sup dans le Rhône (69)	Vétérinaire praticien dans le Loiret (45)
Date de prélèvement	01/03/2022	05/03/2022	26/03/2022	25/03/2022
Heure de prélèvement	10h10	14h15	22h30	Inconnue
Méthode de prélèvement urinaire	Sondage urinaire	Miction spontanée	Cystocentèse	Inconnue
Délai entre la consommation de mycotoxines et la réalisation du prélèvement urinaire	48 h à 72 h	Moins de 24 h	Moins de 12 h	Moins de 12 h
Race du chien	Épagneul Pékinois	Berger Australien	Border collie	Inconnue
Substrat suspecté d'avoir été consommé	Compost	Aliment moisi	Noix moisies ou compost	Inconnu
Suspicion incluse dans l'étude prospective	Oui	Oui	Non	Oui

1. Description du déroulement des intoxications et de l'évolution de l'état des animaux

Le premier prélèvement a été effectué sur un épagneul Pékinois mâle adulte ayant consommé du compost en quantité importante 2 à 3 jours avant l'appel au CNITV. L'animal présentait des tremblements généralisés, une position d'opisthotonos, et une hypothermie lors de son arrivée à la clinique vétérinaire. Ce chien avait d'ores et déjà été mis sous perfusion depuis son admission et avait également été traité avec des ELI, des bolus de diazépam en IV, des injections de vitamine B1 et B6, ainsi qu'avec une antibiothérapie à base d'amoxicilline/acide clavulanique et de marbofloxacin. Après

6 jours d'hospitalisation et une tentative de retour chez ses propriétaires, l'animal a été euthanasié par son vétérinaire en raison de la présence de graves séquelles dont une cécité totale et une absence totale d'odorat.

Le second échantillon urinaire analysé provenait d'un berger Australien adulte ayant consommé un aliment moisi non spécifié moins de 24 h avant la réalisation du prélèvement. Ce chien présenté chez son vétérinaire pour des trémulations musculaires, une hyperthermie et une hypersalivation a passé 48 h en hospitalisation et est retourné chez ses propriétaires avec de légers tremblements qui ont rétrocedé un jour plus tard. Avant la réalisation du prélèvement, l'animal avait déjà subi un traitement éliminatoire à base d'apomorphine et de charbon végétal activé et un traitement symptomatique constitué de bolus de diazépam en IV et de citrate de maropitant en IV. Aucune séquelle n'a été remarquée par son vétérinaire lors de la visite de contrôle après son retour à domicile.

Le troisième prélèvement urinaire a été réalisée sur une chienne border collie de 1 an et demi admise au service d'urgence de VetAgro Sup. Celle-ci était suspectée d'avoir pu consommer du compost et des morceaux de noix ont été retrouvés dans ses vomissements. Lors de son admission elle présentait des tremblements généralisés, des vomissements et du ptyalisme. L'animal avait déjà reçu une administration intra nasale de midazolam et des émulsions lipidiques par voie intraveineuse lors de la de la réalisation de sa cystocentèse. Admise dans la soirée, les symptômes neurologiques de la chienne ont rétrocedé dans la nuit et elle a été rendue à ses propriétaires le lendemain.

Le dernier échantillon d'urine a été réalisé sur une chienne femelle adulte suite à sa consommation d'un substrat inconnu dans la journée, celle-ci présentait des convulsions, des trémulations musculaires, une ataxie, une hyperthermie et un nystagmus. La chienne a été reçue en urgence à 18 h par sa vétérinaire, dans les quelques heures précédant cette admission celle-ci avait passé une période non surveillée dans un jardin en présence d'une autre chienne. Cet autre animal a été victime de troubles similaires mais n'a été présentée chez le vétérinaire que le lendemain matin à 8 h et a été euthanasié à 10 h en raison de souffrances trop intenses. Le prélèvement urinaire a été réalisé sur la chienne ayant survécu le soir même de son admission, avant cela l'animal avait déjà été mis sous perfusion, puis traité avec du diazépam et du pentobarbital en IV.

2. Délai de réalisation et méthode de prélèvement

Malgré le peu d'échantillons prélevés toutes les méthodes de prélèvement urinaire possibles sur un animal ont été au moins réalisées à une reprise au cours de cette étude. En effet un prélèvement analysé a été réalisé par cystocentèse, un autre par récolte de miction spontanée et le dernier par sondage urinaire sur un chien mâle. La modalité de prélèvement du dernier échantillon n'a pas été détaillée.

Le délai entre la potentielle consommation de mycotoxines trémorigènes par les chiens et la réalisation du prélèvement d'urine par un vétérinaire suite à la consultation du CNITV par ce dernier a été de l'ordre de moins de 12 h pour 2 échantillons, de moins d'un jour pour l'échantillon numéro 2 et de 2 à 3 jours pour le premier l'échantillon. Bien que les vétérinaires aient mentionné l'heure de prélèvement sur la fiche accompagnatrice de l'échantillon urinaire destiné à Toxlab, l'heure de consommation du substrat alimentaire potentiellement toxique était imprécise dans tous ces cas. Ceci explique la largeur des intervalles de durée de ces délais.

2) Transport et analyse des échantillons urinaires

1. Étapes du transport des échantillons urinaires

Les échantillons urinaires 1,2 et 4 provenant de vétérinaires libéraux ont été conservés au réfrigérateur durant une durée inférieure à respectivement 12, 48 et 96 h, jusqu'à leur transport sous couvert de froid. Celui-ci a été réalisé par La Poste® et a duré de 2 à 3 jours selon le cas. À leur arrivée au laboratoire de toxicologie ces échantillons urinaires ont été congelés jusqu'au jour de l'analyse. En pratique cette durée de congélation n'a pas excédé 8 jours.

Le prélèvement numéro 3 a été prélevé un samedi soir à 22h30, il a ensuite été conservé au réfrigérateur jusqu'au lundi avant d'être directement amené à Toxlab, qui se situe sur le même campus que le lieu de prélèvement. Celui-ci a ensuite été conservé jusqu'au vendredi au réfrigérateur avant d'être congelé. Le prélèvement urinaire numéro 4 a été abimé au cours du transport, en effet le bocal contenant les urines s'est ouvert au cours de l'acheminement postal et les urines ont été absorbées par le second emballage. L'analyse de cet échantillon par LC-MS/MS n'a donc pas été possible.

Le Tableau XXXVIII ci-dessous résume les étapes de l'acheminement des échantillons urinaires de leur lieu de prélèvement jusqu'à Toxlab, et de leur conservation jusqu'à la réalisation de l'analyse.

Tableau XXXVIII : Transport et résultat du dosage quantitatif du pénitrem A et de la roquefortine C par LC-MS/MS à Toxlab des échantillons urinaires de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

Référence de l'échantillon à Toxlab		22/0126	22/0138	22/0190	22/0195
Temps de conservation des urines au réfrigérateur avant envoi		Moins de 12 h	Moins de 48 h	Moins de 48 h	De 3 à 4 jours
Date d'envoi du prélèvement urinaire		01/03/2022	07/03/2022	28/03/2022	29/03/2022
Date de réception du prélèvement urinaire à Toxlab		03/03/2022	09/03/2022	01/04/2022	01/04/2022
Temps de transport réfrigéré		2 jours	2 jours	0 jours	3 jours
Délai entre le prélèvement urinaire et la congélation de l'échantillon urinaire		Moins de 2,5 jours	Moins de 4 jours	Moins de 6 jours	Non réalisée
Date de réalisation d'analyse urinaire par LC-MS/MS		11/03/2022	11/03/2022	04/04/2022	Non réalisée
Temps de conservation au congélateur avant analyse à Toxlab		8 jours	2 jours	3 jours	Non réalisé
Résultats quantitatifs d'analyse	Roquefortine C	Absence de détection	Absence de détection	Absence de détection	Non réalisée
	Pénitrem A	Absence de détection	Absence de détection	Absence de détection	Non réalisée

2. Résultats de l'analyse des échantillons urinaires par LC-MS/MS

Les échantillons urinaires numéro 1, 2 et 3 ont été soumis au dosage quantitatif du pénitrem A et de la roquefortine C par une méthode de LC-MS/MS à Toxlab. Les résultats de ces analyses ont montré une absence de détection de ces 2 mycotoxines dans tous les échantillons analysés. Aucun échantillon d'urine prélevé sur un chien suspecté de s'être intoxiqué avec des mycotoxines trémorigènes dans cette étude ne s'est donc révélé contenir du pénitrem A ou de la roquefortine C, en quantité suffisante pour permettre sa détection.

IV) Discussion

A) Études rétrospectives

Afin de simplifier leurs dénominations, dans toute cette partie l'étude rétrospective menée de janvier 2009 à décembre 2019 au CNITV sera désignée par le terme « première étude » et celle menée de Février 2021 à Mars 2022 par le terme « seconde étude ».

La présentation des résultats des 2 études rétrospectives exposées dans ce travail étant similaire, et sachant que celles-ci ont été menées dans le même centre antipoison, il a été jugé optimal d'analyser leurs résultats simultanément. La différence majeure entre ces deux travaux, outre leurs durées d'études très différentes, réside dans le type d'appels recensés et analysés. Dans la première étude menée au CNITV de 2009 à 2019, seules les suspicions de consommation de noix moisies sont recensées et analysées. Alors que dans la seconde, effectuée de Février 2021 à Mars 2022, les suspicions d'expositions canines à toutes les sources potentielles de mycotoxines trémorigènes sont répertoriées et étudiées. Néanmoins, étant donné que 64,9 % (50/77) des appels traités dans l'analyse statistique de la seconde étude rétrospective concernent également des suspicions d'intoxications de chiens suite à la consommation de noix moisies, l'effet de cette différence s'en trouve limité.

Enfin dans toute cette partie les résultats des deux autres études rétrospectives recensant les cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes dans des centres antipoison Français (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018) seront fréquemment comparés à ceux des études rétrospectives présentées dans notre travail. Ces travaux ont déjà été cités à maintes reprises, et sont notamment présentés dans le Tableau IV.

1) Limites des études

1. Limites de l'étude rétrospective menée de janvier 2009 à décembre 2019

De nombreuses limites étaient présentes dans cette étude, et un grand nombre d'entre elles était lié à l'origine des données analysées issues d'un centre antipoison. Ainsi, bien que les appels sélectionnés aient tous fait suite à une exposition possible ou certaine de chiens à des noix moisies, il ne s'agissait que de suspicions d'intoxications. Aucune analyse toxicologique visant à la détection des mycotoxines trémorigènes ou de leurs moisissures productrices dans un échantillon alimentaire ou biologique n'a été réalisée au cours d'un de ces 186 cas, à la connaissance du CNITV. Il n'est donc pas impossible que les symptômes apparus sur certains de ces animaux avaient une autre cause qu'une intoxication aux noix moisies.

Le fonctionnement d'un centre antipoison est basé sur la mise à disposition d'une ligne téléphonique pour les vétérinaires praticiens et les particuliers. En raison du grand nombre d'appels pouvant souvent être reçus simultanément par le ou les permanents du CNITV et de la nécessité d'instauration d'un traitement d'urgence pour certains animaux intoxiqués, la durée des communications téléphoniques est limitée. Ainsi il est fréquent que lors de la description d'une intoxication par un appelant de nombreux détails soient omis, car ceux-ci résumant souvent le cas en transmettant uniquement les informations qu'ils jugent essentielles. Ceci a pour conséquence qu'un grand nombre de fiches de la base de données V-Tox[®] sont incomplètes, des informations sont souvent manquantes sur l'animal et le déroulement de l'intoxication. En particulier les caractéristiques de l'animal intoxiqué et notamment

son âge, son sexe et son poids sont inconnus dans de nombreuses fiches. Cependant il a été remarqué qu'au fur et à mesure des années les fiches V-Tox® avaient tendance à être de plus en plus complètes.

En plus des nombreuses inconnues réelles telles que le contexte d'exposition pour certains animaux et la dose de noix moisies ingérée, d'autres biais limitaient encore l'interprétation des résultats de l'analyse statistique descriptive de cette étude. Tout d'abord bien que très majoritairement constitués de vétérinaires certains appelants étaient des particuliers, ces personnes n'ayant pas forcément de formation dans le domaine médical leur description des symptômes s'en trouvait forcément limitée par rapport à celle d'un professionnel de la santé animale. La reconnaissance d'un symptôme et sa dénomination exacte ne sont effectivement pas évidentes pour les non-initiés. Cependant les descriptions des symptômes présents sur les animaux suspects d'intoxication par les vétérinaires présentaient elles aussi quelques défauts. Les praticiens décrivaient, en effet, uniquement oralement les principaux symptômes relevés sur l'animal. Cela n'est en rien comparable à une étude clinique où ceux-ci auraient disposé d'un document recensant tous les symptômes possibles pour un animal intoxiqué, et où ils auraient dû attester de la présence ou de l'absence de chaque signe clinique. Ceci a eu pour conséquence que de nombreux symptômes ont sûrement été omis dans la description téléphonique de la symptomatologie des animaux. De même certaines modifications mineures telles qu'une légère tachycardie ou hyperthermie sur un chien victime de crises convulsives n'ont pas forcément été jugées utiles à transmettre par les vétérinaires appelants, car il pouvait leur sembler évident que ces signes étaient liés aux convulsions. Toutes ces raisons expliquent que les fréquences des différents symptômes, déterminées par étude statistique des cas de suspicion dans un centre antipoison, sont très probablement biaisées.

Enfin aucune information postérieure à l'appel n'était disponible pour chacun de ces cas, en particulier l'évolution de l'état des animaux, la durée et le déroulement de l'hospitalisation étaient inconnus.

2. Limites de l'étude rétrospective menée Février 2021 à Mars 2022

Les limites de cette étude rétrospective menée en centre antipoison étaient les mêmes que celles présentées dans l'étude précédente (Deuxième partie II) A) 2) 4.), à savoir qu'il ne s'agissait que de suspicions d'intoxications, de notifications spontanées, et que de nombreux détails étaient fréquemment omis dans la description téléphonique des signes cliniques présentés par l'animal et celle du contexte d'intoxication. De plus cette étude présentait le défaut de n'avoir été menée que sur une année ce qui augmentait les risques d'observation de tendances liées à la faiblesse de l'effectif.

Néanmoins au contraire de la première étude, l'analyse statistique a ici été uniquement réalisée sur des appels émis au CNITV par des docteurs vétérinaires, ce qui a accru la fiabilité de description des symptômes des chiens intoxiqués. Enfin la sélection des fiches V-Tox® suite à une analyse de toutes les informations s'y trouvant, et non pas uniquement sur certains critères, a limité l'inclusion dans l'étude de cas non liés à la consommation de mycotoxines trémorigènes.

2) Caractéristiques des appels

1. Motifs d'appels et qualité des appelants

Les motifs d'appels enregistrés au CNITV dans nos 2 études sont étonnamment opposés à ceux de l'étude menée de Janvier 2008 à Mars 2015 au CNITV par Adamczyk et ses collaborateurs (Adamczyk

et al., 2016). Ceci est d'autant plus étonnant qu'une grande partie des cas de cette dernière étude sont également pris en compte dans la première des études rétrospectives de ce travail. Cela signifie que les appels reçus postérieurement à Mars 2015 au CNITV pour des suspicions d'intoxications canines aux noix moisies étaient en très grande majorité des « demandes d'aide au traitement ».

Cette inversion dans l'ordre des deux motifs d'appels les plus fréquents au CNITV tend à s'accroître avec un pourcentage de plus en plus important des « demandes d'aides au traitement » atteignant même 83 % des communications dans la deuxième étude rétrospective. Deux hypothèses différentes pourraient expliquer ce changement observé dans les appels reçus par ce centre antipoison. La première consisterait en une augmentation de la connaissance de la toxicité des mycotoxines au sein de la profession vétérinaire en France, et la seconde serait un changement des critères d'inclusions dans les différentes catégories de motifs d'appels au CNITV, ainsi des communications anciennement considérées comme une « aide au diagnostic » pourraient maintenant selon les nouvelles normes être désignées comme des demandes de mise en place de traitement. Aucun élément factuel ne permet, à l'heure actuelle, de privilégier l'une ou l'autre de ces hypothèses.

2. Délai entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'appel au CNITV

Les délais recensés entre l'apparition des signes cliniques chez l'animal et le contact du CNITV ont été très similaires dans les appels de nos deux études. Ces résultats montrent donc de grandes similitudes dans les délais de contact d'un centre antipoison après l'apparition des premiers symptômes chez l'animal. Ces appels émanant en immense majorité de praticiens, ils font donc nécessairement suite à une présentation antérieure des animaux à un vétérinaire, précédant l'appel de quelques minutes à plusieurs heures. Ainsi il est possible de conclure qu'une grande majorité des chiens suspectés d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans ces 2 études a été présentée rapidement, dans un délai généralement inférieur à 12 h, à un professionnel de la santé animale. Ces délais impliquent souvent la réalisation d'une consultation d'urgence d'un praticien généraliste ou d'une structure spécialisée dans le traitement des urgences animales. Cette très rapide présentation des chiens victimes d'intoxication à un professionnel de la santé est très probablement liée au caractère impressionnant et inquiétant des symptômes neurologiques qui peuvent apparaître suite à l'ingestion de mycotoxines trémorigènes. En effet comme le signalent Barker et ses coauteurs des symptômes très graves et altérant très fortement l'état de conscience de l'animal tels que des convulsions généralisées, un status épilepticus, une mydriase ou un nystagmus peuvent apparaître de façon soudaine et dès 30 minutes après l'ingestion des mycotoxines (Barker et al., 2013).

Ainsi des crises convulsives ou des tremblements généralisés poussent beaucoup plus souvent les propriétaires à consulter en urgence un vétérinaire que de simples vomissements ou diarrhées. Les signes neuro-musculaires typiques d'une intoxication aux métabolites fongiques neurotoxiques sont donc sûrement la cause de cette très rapide présentation des animaux à un vétérinaire.

Les cas où le CNITV a été contacté plus d'une journée après l'apparition des signes cliniques ont été minoritaires dans nos 2 études et ont été en grande partie liés à des atteintes modérées des animaux, ou à des gestions initiales de l'intoxication par des vétérinaires ayant ensuite contacté le CNITV dans un but uniquement diagnostique ou lors d'absence d'efficacité du traitement mis en place. Bien que les délais entre l'apparition des signes cliniques et le contact des centres antipoison n'aient pas été mentionnés dans les études de Adamczyk et Lheureux, la détermination d'un délai d'apparition des

signes cliniques de l'ordre de quelques heures et les hauts pourcentages de chiens gravement atteints au moment des appels, impliquaient également une majorité de contacts rapides des centres antipoison dans ces études (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018).

3. Nombre d'animaux suspectés d'exposition au toxique

Les suspicions d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes concernant un unique chien sont très largement majoritaires en termes de nombre total de communications ou d'animaux qu'elles représentent. Ces proportions sont légèrement inférieures à celle d'une précédente étude menée au CNITV qui avait recensé 22,4 % de cas d'intoxications multiples, néanmoins ces cas y restaient tout de mêmes de 3 à 4 fois moins fréquents que ceux concernant un unique animal (Adamczyk et al., 2016). Cette prédominance des cas ne concernant que 1 seul animal peut être expliquée par différentes raisons, mais l'une des principales est probablement que la majorité des propriétaires de chiens en France n'en possèdent qu'un seul.

Parmi les intoxications multiples la grande majorité d'entre elles concernaient deux chiens atteints simultanément en raison de la consommation d'une même source de toxique. Ces cas se présentaient alors sous la forme de deux chiens vivant dans le même domicile et ayant consommé un aliment altéré, ou s'étant retrouvés ensemble durant une période non surveillée à l'extérieur en présence de noyers ou de tas de compost dans l'environnement.

3) Contexte d'exposition

1. Répartition annuelle et mensuelle des appels

a) Répartition mensuelle et trimestrielle des appels

Les répartitions mensuelles et trimestrielles des appels ont été très semblables dans les deux études présentées. En effet les mois hivernaux de l'hémisphère Nord et en particulier le premier trimestre annuel semblent des périodes bien plus propices à la sollicitation du CNITV pour une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Adamczyk et ses coauteurs au CNITV de 2008 à 2015, leurs travaux avaient montré une répartition de 84,2 % des cas d'intoxications canines aux noix moisies rapportés au CNITV sur les 3 premiers mois annuels (Adamczyk et al., 2016). Leurs observations se sont donc répétées de 2015 à 2019 et en 2021. De même l'étude rétrospective menée au CAPAE-Ouest, de 2006 à 2015 a recensé une grande majorité (68,1 %) des appels concernant une intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes sur les mois de Janvier à Avril, et une prévalence de ces sollicitations la plus faible sur une période s'étalant du mois de Mars jusqu'à la fin du mois de Septembre.

Il ne fait donc nul doute que l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes du chien et en particulier celle liée à la consommation de noix moisies présente un caractère saisonnier en France. C'est une intoxication beaucoup plus fréquente sur les mois de Janvier, Février et Mars que le reste de l'année. Les conditions environnementales aux pieds des noyers à ces périodes doivent donc être optimales pour la synthèse et/ou la persistance de pénitrem A et roquefortine C, or comme évoqué précédemment les températures optimales de synthèse de ces 2 toxines oscillent autour de respectivement 22°C et 25°C, ce qui ne correspond pas aux températures hivernales métropolitaines.

D'autres facteurs environnementaux comme la composition du substrat de développement des moisissures et l'humidité du milieu sont donc sûrement des paramètres prépondérants par rapport à la température dans la synthèse de ces 2 métabolites.

b) Répartition annuelle des appels

Le nombre d'appels reçus chaque année par le CNITV pour une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes est très variable, certaines années en recensent en effet un nombre beaucoup plus important que d'autres. Il est très fortement probable que si les appels reçus par le CNITV pour une consommation de fruits de noyers en décomposition en 2021 et 2022 avaient été comptabilisés sur l'intégralité de ces années, ceux-ci auraient au moins atteint un effectif de 30 à 40, ce qui aurait fait de 2021 et 2022 les secondes et troisième années présentant le plus de sollicitations du centre antipoison pour ce motif depuis 2009.

Ces résultats semblent donc montrer une seconde caractéristique en plus de la forte variation annuelle du nombre d'appels de suspicions d'intoxication aux noix moisies reçus par le CNITV, en effet il est à souligner que le nombre de ces sollicitations semble avoir de manière globale fortement augmenté ces dernières années. Ainsi depuis 2015 au moins 10 appels pour ce motif ont été reçus annuellement au CNITV, et depuis 2018 ce nombre a été d'au minimum 24. Ces résultats s'accordent avec les observations de Lheureux dans son étude menée de 2006 à 2015 où une variation annuelle du nombre d'appels pour des intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes avait également été soulignée en plus d'une augmentation globale du nombre de ces suspicions par le centre antipoison dans les dernières années étudiées (Lheureux et al., 2018).

Deux raisons peuvent permettre d'expliquer la variation annuelle du nombre de suspicions d'intoxications aux noix moisies. La première est très probablement liée aux conditions météorologiques pouvant être très variables d'un hiver à l'autre en France, et la deuxième est à relier à la production annuelle des noyers situés sur le territoire métropolitain elle-même soumise à d'importantes variations, rendant donc la disponibilité des noix à l'espèce canine inégale selon les années.

L'augmentation générale du nombre de sollicitations du CNITV pour une telle intoxication pourrait être expliquée par un plus grand nombre des cas de consommation de substrats sources de mycotoxines en France ces dernières années, lui-même potentiellement lié au réchauffement climatique actuel. Une augmentation de la connaissance de ce toxique au sein de la profession vétérinaire et de ce fait sa plus fréquente suspicion par les praticiens, serait également une explication possible de cette tendance. Enfin celle-ci pourrait aussi tout simplement être liée à l'augmentation globale du nombre d'appels reçus chaque année au CNITV. Une analyse de la proportion annuelle des appels reçus par les centres antipoison, concernant des intoxications canines aux noix moisies, permettrait d'objectiver et de chiffrer cette augmentation.

Certaines années seraient donc beaucoup plus propices aux intoxications canines aux noix moisies. Il semblerait également que cette intoxication soit de plus en plus fréquemment rapportée aux centres antipoison, mais il est complexe de déterminer s'il s'agit d'une réelle augmentation du nombre de ce type d'intoxications en France, d'un plus fréquent diagnostic de celles-ci, voire même d'une sollicitation plus fréquente des centres antipoison de la part des vétérinaires Français.

c) Influence du substrat alimentaire

L'analyse de la distribution mensuelle des appels concernant la consommation d'une autre source de mycotoxines trémorigènes que les noix moisies n'a pas été interprétable dans notre seconde étude en raison du faible nombre d'appels reçus pour ces substrats. Nos résultats suggèrent tout de même que l'intoxication de chiens suite à la consommation d'aliments moisies semble pouvoir se dérouler tout au long de l'année et ne revêtirait donc pas de caractère saisonnier. Les résultats de l'étude rétrospective menée au CAPAE-Ouest sont d'ailleurs en accord avec cette suggestion (Lheureux et al., 2018).

Au contraire les troubles liés à la consommation de compost seraient eux plus fréquemment rapportés en centre antipoison en période hivernale, soit à la même saison que ceux liés aux noix moisies. La même observation a été effectuée par Lheureux dans son étude où tous les appels concernant une intoxication au compost ont été reçus au centre antipoison de janvier à Mars (Lheureux et al., 2018). L'intoxication au compost semble donc revêtir un caractère saisonnier hivernal.

2. Répartition géographique des appels

a) Appels liés à la consommation de noix moisies

Les résultats de nos deux études rétrospectives présentent de grandes similitudes, ils décrivent en effet chacun deux zones géographiques plus fréquemment à l'origine de ces sollicitations : une située au Sud-Ouest concernant les départements aux alentours de la vallée de la Garonne (dont notamment la Dordogne, la Gironde, la Haute Garonne, le Lot, le Tarn, le Tarn et Garonne) et la seconde localisée entre le Massif Central et les Alpes et centrée autour du département de l'Isère. L'étude menée au CAPAE-Ouest entre 2006 et 2015 avait, elle, mis en évidence une prédominance de ces communications en provenance du Sud-Ouest uniquement (Lheureux et al., 2018). L'absence de nombreux appels en provenance du second foyer identifié dans notre étude peut s'expliquer par une certaine « régionalisation » des appels.

Il est très intéressant de comparer ces résultats à la carte nationale de répartition de la production Française de Noix (Figure 81), ci-dessous :

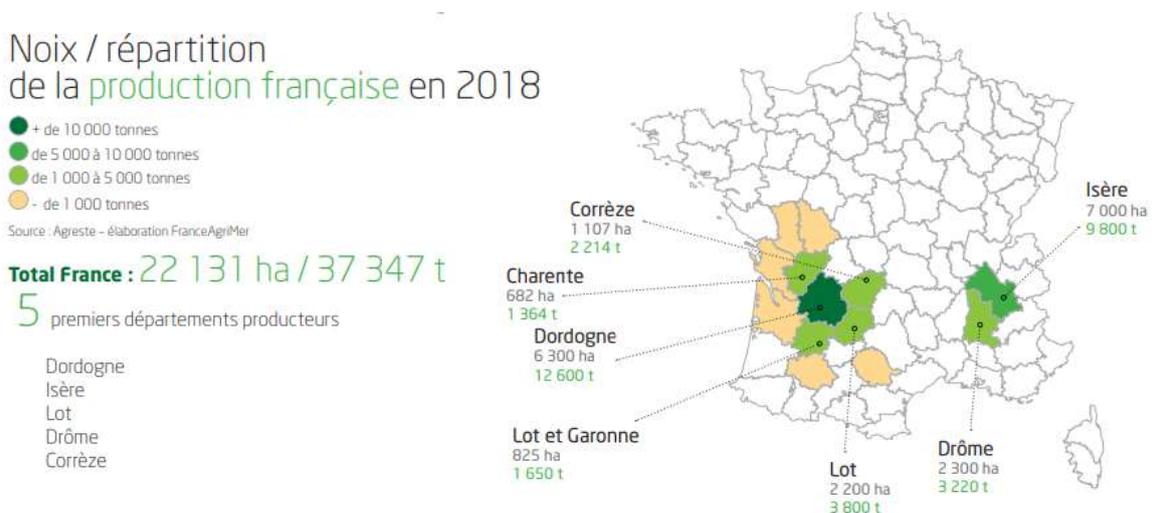


Figure 81 : Répartition de la production française de noix en 2018 (FranceAgriMer, 2020)

Il est ainsi visible que les deux aires géographiques les plus à l'origine d'appels reçus par le CNITV pour des chiens suspectés d'avoir consommé des noix moisies coïncident quasiment parfaitement avec les zones regroupant les départements les plus producteurs de ce fruit, dont notamment l'Isère et la Dordogne. Le nombre de ces intoxications semblerait donc plus important dans les départements où la culture de la noix est la plus forte en France. Néanmoins comme mentionné les noyers sont des arbres très répandus dans les jardins, espaces publics et sur le bord des routes dans l'intégralité du territoire Français à l'exception des littoraux. Ceci explique probablement également la possible occurrence de cas d'intoxication dans quasiment toutes les régions de France.

A l'exception de la Bretagne, la Normandie, la Corse, la Lorraine et de quelques départements du centre de la France, tous les autres territoires métropolitains ont en effet été à l'origine d'au moins une sollicitation du CNITV pour une suspicion d'intoxication de chien aux noix moisies au cours de nos deux études. L'absence d'appel relatant une consommation de noix moisies émanant de Bretagne lors de nos deux travaux rétrospectifs est probablement à relier à la très faible présence de noyers dans cette région côtière. Le peu d'appels reçus provenant des territoires situés dans le Nord-Ouest du pays pourrait également s'expliquer par leur proximité avec le CAPAE-Ouest, néanmoins Lheureux a montré que seuls 1 à 2 appels pour des noix moisies avaient été émis de ces territoires vers ce centre antipoison entre 2006 à 2015 (Lheureux et al., 2018). Les régions de la Bretagne et de la Normandie semblent donc très peu propices à l'intoxication de chiens par des noix moisies.

Enfin concernant la Corse, la Lorraine et les nombreux autres départements du centre de la France à l'origine d'aucune ou de très rares sollicitations du CNITV et présentant pourtant une population de noyers relativement semblable à la moyenne nationale, il est simplement possible que leurs conditions climatiques locales soient moins favorables à la production de mycotoxines trémorigènes comparées à celles de régions à l'origine de beaucoup d'appels dans ces deux études.

En conclusion l'intoxication des chiens aux noix moisies en France semblerait plus fréquente dans les régions fortes productrices de noix localisées dans le Sud-Ouest et autour de l'Isère, elle serait en revanche beaucoup plus rare dans certaines autres régions telles que la Bretagne ou la Normandie, et resterait occasionnelle sur tout le reste du territoire métropolitain. Ceci a pour conséquence que la suspicion d'une implication des mycotoxines trémorigènes dans des troubles neuro-musculaires d'origine inconnue doit être renforcée lorsque celle-ci a lieu dans des régions à plus haut risque d'intoxication.

b) Appels liés à d'autres substrats alimentaires

Les appels de la seconde étude liés à d'autres sources de mycotoxines trémorigènes que les noix moisies sont trop peu nombreux pour que l'analyse de leur distribution géographique permette de réelles conclusions. Il semblerait néanmoins que la majorité d'entre eux provienne tout de même du Sud-Ouest et de la région située entre les Alpes et le Massif central. Seules les sollicitations faisant suite à une consommation de compost semblent en majorité provenir de départements limitrophes recréant ainsi les 2 foyers précédemment cités. Cette répartition géographique des appels liés à une intoxication avec du compost, similaire à celle des noix moisies, couplée à une commune saisonnalité hivernale d'occurrence des intoxications à ces 2 substrats, laisse suggérer que les conditions environnementales permettant la synthèse du pénitrème A et de la roquefortine C dans des tas de compost et dans les noix tombées au sol sont les mêmes.

En revanche les suspicions d'intoxications de chiens à des aliments moisissés destinés initialement à l'homme ou liées à la consommation du contenu de poubelles domestiques semblent provenir de départements sans lien géographique apparent. Leur distribution géographique serait alors aléatoire, ce qui n'a rien d'étonnant car celle-ci est fortement liée à l'activité de l'homme et donc très peu dépendante des conditions climatiques.

3. Lieux et circonstances des intoxications

a) Appels liés à la consommation de noix moisissées

Lorsque le toxique suspecté d'être à l'origine des symptômes de l'animal se trouve être des noix moisissées, le jardin des propriétaires est le premier lieu d'intoxication des animaux. Celui-ci a été le lieu de consommation suspecté des fruits au sol dans une grande proportion des cas. Le deuxième lieu le plus fréquent d'intoxication est la maison des propriétaires. Il semblerait donc que l'intoxication d'animaux suite à l'ingestion de noix récoltées et en train de moisir dans l'habitat des propriétaires soit donc beaucoup plus rare que celle de noix au sol. L'intoxication dans le milieu extérieur peut être naturelle dans le cas des promenades ou fugues de chiens avec consommation des fruits d'un noyer sauvage. Néanmoins comme le montrent les résultats de nos deux études celle-ci est beaucoup plus fréquente dans le jardin des propriétaires et est donc liée à la disposition d'une source de mycotoxines dans l'environnement quotidien de l'animal. Ces résultats sont très proches de ceux obtenus lors de l'étude d'Adamczyk et ses coauteurs qui ont recensé 70 % des cas d'intoxications canines aux noix moisissées ayant eu lieu dans le jardin (Adamczyk et al., 2016). Leurs observations de 2008 à 2015 se sont donc répétées de 2015 à 2019.

2 cas de figure sont fréquemment décrits par les propriétaires : certains chiens consomment régulièrement ces fruits sans que cela ne leur cause de troubles ou n'inquiète les propriétaires, et d'autres ont eu accidentellement accès à cette source de toxique durant une période non surveillée contrairement à l'accoutumée.

Il semblerait donc que la majorité des cas d'intoxication aux noix moisissées ait lieu dans le jardin des propriétaires en présence ou en l'absence de surveillance de l'animal. Il serait donc judicieux pour tout propriétaire de chien ayant un jardin comportant au moins 1 noyer de ne pas permettre la consommation des noix tombées au sol à leur animal. Ceci peut être réalisé par prévention d'accès à la zone concentrant les noyers ou par l'absence de périodes non surveillées de l'animal dans cet espace. Cette vigilance devrait encore plus être renforcée durant les mois hivernaux et dans les départements les plus à risques pour cette intoxication.

b) Appels liés à d'autres substrats alimentaires

La consommation d'aliments moisissés initialement destinés à l'homme ou de contenu de poubelles domestiques a elle le plus souvent eu lieu dans la maison des propriétaires. Il s'agissait en général de chiens ayant dérobé une denrée entreposée avant d'être mise parmi les déchets du foyer. Aucun aliment altéré, à l'exception d'une noix moisie lors d'un appel, n'a été volontairement donné à un chien par son propriétaire au cours de nos études. Certaines de ces consommations, notamment celle de pâtée pour chat et de soupe périmées se sont soldées par la mort des animaux. Ainsi bien qu'il soit parfois possible que les chiens puissent manger des aliments altérés sans que cela ne leur cause de

troubles, d'après nos résultats il est également tout à fait possible que cela mette leur vie en jeu. Ainsi il apparaît très risqué de laisser les carnivores domestiques ingérer des denrées alimentaires moisies considérées comme impropre à la consommation humaine.

Concernant les consommations des poubelles du foyer familial, bien que ce genre d'accident puisse arriver dans de nombreux contextes, plusieurs moyens de préventions existent :

-Mettre celles-ci dans un lieu inaccessible au chien.

-Changer le sac poubelle régulièrement afin d'éviter de laisser trop longtemps des restes alimentaires moisir ce qui favorise la synthèse des mycotoxines.

-Changer le sac poubelle lorsqu'un aliment très appétant pour l'animal y est jeté (restes alimentaires de fêtes, os, viande, poisson...)

4) Caractéristiques des chiens suspectés d'intoxication

1. Race, sexe et poids des animaux

a) Influence de la race et du poids

Les résultats de nos deux études sont en faveur d'une absence de surreprésentation raciale au sein des appels reçus par le CNITV pour des suspicions d'intoxications canines aux noix moisies ou à d'autres sources de mycotoxines trémorigènes. Bien que les représentants de certaines races aient été à l'origine d'un plus grand nombre d'appels que d'autres, il n'est pas possible d'en tirer des conclusions en raison de la très grande inégalité des effectifs des différentes races canines en France. Ainsi en prenant l'exemple des 5 races les plus représentées dans la première étude (à savoir les labradors, les chiens de race croisée, les bouviers Bernois, les goldens Retriever et les Jack Russel terriers), toutes ces races font également partie des races présentant un des plus grands effectifs en France. De même la présence dans cette tête de liste de races de chiens présentant une forte partie de leur population avec un comportement alimentaire dit de « glouton », tels que les goldens Retriever et les labradors, n'est pas forcément synonyme d'un plus grand risque de consommation de ces toxines mais est peut-être simplement lié à leur très importante présence dans les foyers Français. Ces résultats sont en accord avec ceux des deux autres études rétrospectives effectuées dans des centres antipoison Français ayant conclu à une absence de surreprésentation raciale (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018).

Enfin ce recensement des races a permis de démontrer la susceptibilité d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes de n'importe quel gabarit de chien, des races géantes (telles que les bouviers Bernois) aux plus petites d'entre elles (comme les chihuahuas). Les moyennes et médianes des chiens suspects d'exposition à ce toxique correspondent à individus issus des races canines de taille moyenne ainsi les chiens de faible poids corporel ne seraient pas plus sujets au développement de symptômes que ceux présentant une masse plus importante. De plus étant donné l'impossibilité de déterminer la concentration en mycotoxines trémorigènes d'un substrat, sachant que celle-ci peut être très hétérogène, et de l'occurrence d'intoxications de chiens de grandes races après consommation de quelques noix moisies uniquement, il est tout à fait injustifié d'exclure ce toxique de l'ensemble des hypothèses diagnostiques concernant un chien victime de troubles neuro-musculaires, uniquement en raison de son poids important.

b) Influence du sexe

La première des études de ce travail présente des résultats similaires à ceux observés par Adamczyk et Lheureux dans leurs études rétrospectives, à savoir une surreprésentation des femelles par rapport aux mâles dans les appels reçus en centre antipoison pour des suspicions d'exposition aux noix moisisées ou à d'autres substrats sources de mycotoxines trémorigènes (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Néanmoins dans ces 3 études les pourcentages d'appels où le sexe de l'animal est inconnu dépassent les 50 %. Ceci limite donc fortement les interprétations de ces résultats. Dans notre seconde étude ce pourcentage est largement inférieur, il n'est en effet que de 35 %. Ainsi les résultats de celle-ci, semblent tout de même plus fiables malgré un effectif d'animaux restreint et une durée d'étude d'à peine 13 mois. Ceux-ci montrent une parfaite égalité du nombre d'appels concernant uniquement un chien mâle et de ceux émis pour un seul animal femelle. Ainsi il ne semblerait donc pas qu'un genre soit plus propice à la consommation de ces mycotoxines que l'autre. Comme mentionné par Lheureux dans sa discussion, il est fort probable que la surreprésentation des femelles soit liée à la mention du mot chienne par l'appelant entraînant la classification immédiate de l'animal en femelle au contraire de la mention du mot chien pouvant simplement faire référence à un individu de l'espèce canine sans prise en compte de son sexe (Lheureux et al., 2018).

En conclusion ni la race, ni le sexe des chiens ne semblent être des facteurs influant dans leur risque d'intoxication et d'exposition aux mycotoxines trémorigènes.

2. Age des animaux

Bien que l'âge des animaux de la première étude n'ait pas fait l'objet de l'extraction de données de la base de données V-Tox®, celui-ci était inconnu dans près de 50 % des appels ce qui aurait limité les conclusions de ces résultats. Dans la seconde étude seul l'âge de 6,5 % des chiens suspectés d'intoxication était inconnu, après avoir rapporté les différentes classes d'âges à une même durée relative il a été conclu que les jeunes (de 2 mois à 1 an) et très jeunes (moins de 2 mois) animaux étaient respectivement 4 et 3 fois plus à l'origine de sollicitations du CNITV pour une intoxication aux mycotoxines trémorigènes que des animaux adultes (de 1 à 8 ans), qui seraient eux-mêmes encore 3 fois plus souvent responsables de ce type d'appels que des chiens seniors âgés de plus de 8 ans.

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature selon lesquelles les jeunes chiens seraient plus susceptibles d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). La faible proportion de cas mentionnant un âge « inconnu » renforce nos conclusions. Ainsi il semblerait que l'âge soit bien un facteur de risque de consommation de mycotoxines trémorigènes chez les chiens et de développement de signes d'intoxication à ces métabolites neurotoxiques. Les chiens jeunes seraient donc plus susceptibles d'être victimes de cette intoxication, néanmoins la littérature et nos études font tout de même part de cas d'intoxication ayant eu lieu sur des chiens de plus de 10 ans. Ainsi bien que des troubles liés à la consommation de mycotoxines trémorigènes soient plus rares chez les chiens les plus âgés, cela ne constitue en aucun cas un motif d'exclusion de cette étiologie chez ces individus.

Les raisons expliquant le supposé plus grand risque d'exposition et de développement de troubles chez les jeunes animaux pourraient être liées à leur caractère explorateur renforcé, à leur faible masse corporelle, voire même selon certains auteurs à une plus grande sensibilité aux mycotoxines trémorigènes des jeunes animaux (Evans and Gupta, 2018).

3. État des animaux au moment de l'appel

Dans ces 2 études rétrospectives, une majorité des chiens suspectés d'avoir été intoxiqués par des mycotoxines trémorigènes ont été jugés comme victimes d'une « atteinte modérée » par le personnel du CNITV au moment de l'appel. Les communications concernant des atteintes bénignes et celles où les animaux déjà guéris ou morts au moment de l'appel ont été elles beaucoup plus rares. Ceci peut se comprendre dans la mesure où comme déjà évoqué une majorité des vétérinaires appelants a contacté le CNITV afin d'obtenir une aide dans la mise en place d'un traitement adapté à l'animal, ce qui n'est pas nécessaire dans les cas où l'animal n'est que très faiblement atteint, ne présente déjà plus de symptômes ou n'est plus en vie.

La prépondérance des atteintes modérées est probablement liée aux caractéristiques même de l'intoxication, en effet des atteintes graves devraient entraîner un plus grand nombre d'appels aux centres antipoison dans la mesure où la nécessité de mise en place de manœuvres thérapeutiques adaptées est plus urgente. Ceci n'étant pas observé, il est fortement plausible que la majorité des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes soit donc à l'origine d'atteintes modérées des animaux concernés, bien qu'il ne s'agisse que d'une estimation de la part des permanents du CNITV au moment de l'appel et que l'état des chiens puisse encore s'aggraver à posteriori. Néanmoins comme l'ont montré les intoxications expérimentales au pénitrem A, l'exposition à de fortes doses de pénitrem A par voie générale entraîne très souvent la mort du chien, au contraire de doses plus faibles ne générant que des symptômes (Hayes et al., 1976). Ces résultats signifieraient donc que la quantité de mycotoxines trémorigènes passant dans la circulation générale des animaux lors d'intoxication naturelles soit limitée.

5) Toxiques suspectés

1. Nature et dose du substrat ingéré

La quantité de noix ingérées n'est quasiment jamais connue avec précision sauf dans les cas où les vétérinaires ont signalé que l'animal n'avait consommé qu'une seule noix ou très peu de ces fruits avant que leur propriétaire ne les empêche d'en consommer davantage. Même dans les cas où la consommation de ce toxique a été observée par le propriétaire, il est généralement impossible d'estimer précisément la quantité de coquilles, cerneaux et brous ingérés par l'animal et encore plus d'estimer la teneur en mycotoxines, en raison de l'hétérogénéité du substrat et de l'absence d'analyse (Barker et al., 2013). Néanmoins la connaissance de cette dose ne revêt pas un grand intérêt pour les praticiens. Effectivement plusieurs cas d'intoxications graves avec la présence de crises convulsives et de tremblements généralisés intenses ont été répertoriés à la suite de consommations très rapides ou d'une quantité très faible de noix moisies.

Toute consommation de noix moisies, peut potentiellement être à l'origine d'une intoxication à dominante nerveuse ou digestive chez un chien. Ainsi lors d'une exposition orale à un aliment fréquemment source de mycotoxines trémorigènes telles que les noix moisies, par mesure de précaution il est toujours préférable d'effectuer des mesures de décontamination digestive rapides chez un vétérinaire.

Dans les cas relevés de consommation d'autres sources de mycotoxines trémorigènes que les noix moisies, la connaissance de la dose ingérée est variable. En effet lors de consommation de compost la dose ingérée et la nature exacte du substrat n'est pas non plus évaluable. Au contraire lors de la consommation d'aliments moisies ou de poubelles domestiques la nature exacte des aliments ingérés et une estimation de leur dose est souvent possible. Néanmoins la richesse en mycotoxines de ces derniers reste toujours impossible à déterminer. En effet une faible quantité d'un aliment altéré peut avoir de graves conséquences allant jusqu'à la mort des animaux consommateurs (Puls and Ladyman, 1988). Le même principe de précaution que celui décrit en cas de la consommation de noix moisies peut être conseillé lors de ces scénarios d'intoxication.

Enfin dans une part non négligeable des suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes la nature et la dose du substrat ingéré restent totalement inconnues. Dans ce genre de cas précis, la présence de vomissements et l'analyse de leur contenu peuvent s'avérer très révélatrices si l'origine des troubles est bien un toxique ingéré par voie orale.

2. Imputation du toxique

Nos résultats montrent que dans au moins 4 cas sur 10 où le CNITV est contacté, l'implication des noix moisies dans les troubles présentés par l'animal ne fait plus l'objet de doutes, les autres hypothèses diagnostiques sont alors exclues et un traitement uniquement symptomatique et décontaminant est conseillé à l'appelant. Cependant au vu de la non spécificité du traitement pouvant être appliqué lors d'intoxications à de nombreux toxiques pour lesquels aucun antidote n'est disponible, celui-ci est quasiment toujours instauré à l'identique dans les cas où la responsabilité de ces toxines est jugée probable.

3. Diagnostic différentiel

Bien que le tableau clinique lié à cette intoxication ne soit pas spécifique, le diagnostic différentiel est rarement évoqué, sans doute du fait de circonstances d'exposition connues (ingestion de noix, d'aliment moisi...).

Les discussions autour du diagnostic différentiel des praticiens de la seconde étude rétrospective sont détaillées dans la partie (Partie II ; III) B) 3) 2.)

4. Origine de la suspicion du toxique

Plus de 9 praticiens sur 10 ont été capables de suspecter la source de l'intoxication des animaux, ce qui a permis au personnel du CNITV de leur indiquer que des mycotoxines trémorigènes étaient souvent présentes dans ce type de substrats alimentaires et pouvaient être responsables des symptômes observés chez le chien en question. Ce résultat, à priori contradictoire avec la faible connaissance de ces toxines par les vétérinaires, suggère cependant que la connaissance de l'exposition au substrat (aliment moisi, noix...) est un élément déterminant pour l'évaluation du cas clinique.

6) Symptomatologie

Dans toute cette partie les résultats des 2 études rétrospectives réalisées dans ce travail seront comparés à ceux des autres études menées en centre antipoison, menées par Adamczyk (Adamczyk et al., 2016) et Lheureux (Lheureux et al., 2018), et à ceux de l'étude rétrospective réalisée sur les publications de cas confirmés par analyse d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes (présentés en Annexe 1 et 2, et analysés dans la partie bibliographique).

1. Délai d'apparition des symptômes

Pour plus de 97 % des appels où le délai d'apparition des signes cliniques était connu, celui-ci a été alors inférieur à 12 h. Ces résultats sont très semblables à ceux obtenus lors de l'étude rétrospective menée sur les cas d'intoxication aux noix moisies recensés au CNITV entre 2008 et 2015 (Adamczyk et al., 2016). L'intoxication aux noix moisies s'exprime donc cliniquement généralement rapidement.

L'analyse des cas démontrés d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes présents dans la littérature, réalisée dans la première partie (Partie I ; II) A) 2) 1.), avait pour sa part affiché une durée moyenne du délai d'apparition des signes cliniques de 2 h et 20 minutes avec près de 94 % de ces délais inférieurs à 4 h. De plus l'étude de Lheureux menée au CAPAE-Ouest avait montré que des durées comprises entre 30 min et 2 h étaient les plus fréquemment citées pour ce type d'intoxication (Lheureux et al., 2018). Le regroupement utilisé par l'UE CNITV (1-12h) ne permet pas d'être plus précis. Il reste cependant compatible avec ce qui est décrit dans la littérature. Le regroupement de délais, proposé par le logiciel V-Tox®, du CNITV (1-12h) ne permet pas d'être plus précis. Il reste cependant compatible avec ce qui est décrit dans la littérature.

Tous ces résultats semblent donc s'accorder. Le délai d'apparition des signes cliniques suite à une exposition orale de chiens de mycotoxines trémorigènes semble être de l'ordre de 30 minutes à 4 h dans une très grande majorité de cas. De plus dans le cas d'une intoxication dont la nature du toxique n'est pas déterminée, un délai d'apparition de plus de 12 h permet raisonnablement d'exclure ces métabolites fongiques du diagnostic différentiel des vétérinaires. Enfin en cas de consommation d'un substrat potentiellement source de mycotoxines trémorigènes par un chien, l'absence d'apparition de signes cliniques 12 h après l'ingestion serait suffisante pour signaler que ce dernier ne sera victime d'aucun trouble lié à cette consommation.

2. Symptômes neuro-musculaires

Les fréquences des différents troubles neuro-musculaires présentés dans nos résultats sont très proches de celles trouvées par les autres études rétrospectives menées en centre antipoison et recensant les mêmes cas d'intoxication. Celles-ci sont en revanche bien inférieures à celles déterminées dans les cas confirmés d'empoisonnements canins à ce toxique présents dans la littérature. Ce phénomène observable pour toutes les études effectuées en centre antipoison est très probablement lié à la perte d'information lors du récit descriptif des cas par les appelants au personnel de ces structures spécialisées en toxicologie, et aussi au fait que l'appel, lors de l'urgence, ne fait pas l'objet d'un suivi.

Nos deux études rétrospectives et les données bibliographiques indiquent que lors d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes, des troubles neuro-musculaires sont présents dans 95 à 100 % des cas. Les plus fréquents de ces troubles sont les trémulations musculaires généralisées, celles-ci sont en effet rapportées dans 60 à 70 % des appels reçus par les centres antipoison Français. La majorité de ces tremblements sont généralisés et concernent donc l'intégralité du corps des animaux, dans certains cas ils peuvent cependant ne concerner que la tête ou les membres du chien. Les 2 seules autres symptômes nerveux fréquemment présents chez les chiens suspects d'intoxication à ce toxique sont la présence de convulsions (non précisées) ou d'une ataxie des 4 membres, présentes chacune dans environ 30 % des cas. Les crises convulsives engendrées par ces métabolites peuvent être de type clonique, tonique, voire même mixte avec présence d'une alternance de ces 2 genres de convulsions. La nature de ces dernières est très rarement signalée aux centres antipoison lors des appels. L'ataxie mentionnée lors des sollicitations des centres de toxicologie est d'intensité très variable, celle-ci peut être constituée d'une simple incoordination motrice ou anomalie de la démarche mais peut également se présenter sous la forme d'une grave atteinte de l'équilibre empêchant l'animal de se tenir debout.

Les autres signes neuro-musculaires sont beaucoup plus rares, outre l'hyperesthésie signalée dans 7 à 10 % des appels recensés dans notre étude, pouvant signaler une hyperréactivité au bruit, au toucher ou aux stimuli lumineux, les autres symptômes nerveux signalés dans les appels reçus par les centres antipoison sont anecdotiques. Ceux-ci se composent majoritairement des 3 signes suivant : présence d'un nystagmus, d'une position d'opisthotonos, ou d'un état comateux chez l'animal. Bien que très rarement mentionnés par des vétérinaires lors de leurs appels à un centre antipoison, ces troubles sont pour les deux premiers bien plus présents dans les cas démontrés de la littérature, ils y concernent en effet 17 à 20 % des chiens. Ainsi comme quasiment l'ensemble des symptômes nerveux et musculaires la fréquence de ces troubles est probablement légèrement sous-évaluée dans nos 2 études rétrospectives. Ceci s'explique sûrement en grande partie car nos deux travaux ont recensé les symptômes présents au moment des appels des centres antipoison, et non tous ceux ayant été développés par l'animal jusqu'à sa guérison (ou son décès).

Les troubles neuro-musculaires sont donc omniprésents lors d'intoxications de chiens aux mycotoxines trémorigènes, souvent assez impressionnants ils représentent fréquemment le motif de présentation de l'animal chez un vétérinaire. Les troubles nerveux les plus fréquents, à savoir les tremblements généralisés, les convulsions et l'ataxie peuvent constituer, selon leur intensité, une urgence thérapeutique. Ces symptômes peuvent à eux seuls entraîner une hyperthermie, de graves lésions musculaires, une déshydratation (Hayes et al., 1976), un fort épuisement de l'animal, des désordres électrolytiques, une hypoglycémie et des blessures externes.

3. Symptômes digestifs

Les fréquences des signes digestifs relevés dans les 2 études rétrospectives présentées sont très proches de celles déterminées par Adamczyk et Lheureux dans leurs études et à celles des cas démontrés d'intoxication de la littérature.

Les vomissements sont présents dans environ 40 à 50 % des cas d'intoxication. Ils sont de très loin le signe clinique digestif le plus fréquent. Souvent précoces ceux-ci peuvent avoir lieu avant la consultation de l'animal par un vétérinaire. Il est à souligner que le mécanisme de déclenchement des vomissements par les mycotoxines trémorigènes est inconnu, bien que le chien soit un animal vomissant très spontanément. Ces vomissements n'étant pas observés lors d'injections

intrapéritonéales de pénitrem A (Hayes et al., 1976), leur origine pourrait soit être directement liée à l'usage de la voie orale (peut être via un mécanisme d'irritation digestive), soit être secondaire à l'effet central d'une autre substance présente dans les substrats alimentaires ingérés comme la roquefortine C, bien que cela ne soit pas démontré.

L'hypersalivation est citée dans 10 à 20 % des appels selon les études, cependant cette valeur est sûrement sous-évaluée car ce signe est rarement décrit en présence de vomissements. De plus il s'agit d'un signe sans gravité probablement peu signalé par les praticiens au CNITV. Enfin la présence d'une diarrhée lors de ce type d'intoxication est très rarement rapportée lors du contact du centre antipoison, dans moins de 5 % des cas, mais il est probable que de nombreuses diarrhées se soient déclarées à posteriori des appels.

4. Symptômes généraux

La mention de symptômes affectant l'état général de l'animal et la réalisation des grandes fonctions de son organisme a été très rare dans les 2 études rétrospectives réalisées. Il en est de même dans les autres études rétrospectives menées en centres antipoison (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Ceux-ci sont en revanche plus fréquemment décrits dans les articles présentant des cas cliniques d'intoxication dans la littérature.

Des signes d'abattement ou de prostration ont été très rarement mentionnés en tant que symptômes lors des communications téléphoniques du CNITV pour des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes, en effet seuls 11,3 % des chiens de la première étude et 3 % de ceux de la seconde en présentaient. Ce qui est nettement moins que les 15,8 % relevées par Lheureux dans son étude rétrospective menée au CAPAE-Ouest (Lheureux et al., 2018) ou les 20,7 % des cas présents dans la littérature. Il est fort probable que ces signes cliniques aient pu être omis dans la description des praticiens ayant contacté le CNITV, ceux-ci ne les ayant pas jugés comme des symptômes mais comme des conséquences des troubles neuro-musculaires des animaux. De plus, ils peuvent survenir plus tardivement et ne pas être nécessairement présents lors de l'appel d'urgence.

Des augmentations de la température corporelle des animaux sont rapportées dans 10 à 15 % des communications dans nos deux études de même que dans les travaux d'Adamczyk et de Lheureux. Cette hyperthermie peut être de modérée à très importante avec des températures relevées entre 39 et 43,5°C dans nos données. Sachant que si ce paramètre franchit le cap des 41°C, il peut à lui seul menacer le pronostic vital de l'animal en raison du risque de dénaturation des protéines de l'organisme, des manœuvres de lutte contre cette augmentation de température sont dès lors indiquées chez l'animal. Néanmoins l'hyperthermie peut aussi rester modérée et ne pas dépasser les 40°C dans de nombreux cas. L'hypothermie a en revanche été très anecdotique dans la base de données du centre antipoison lors de ces 2 études, tout comme dans celle d'Adamczyk et de Lheureux.

De même les altérations du système cardiovasculaire ou respiratoire n'ont été mentionnées que dans une poignée d'appels pour des chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Ces symptômes d'hyperthermie, hypothermie, cardiaques ou respiratoires sont beaucoup plus fréquemment rapportés dans les articles issus de la littérature décrivant des cas d'intoxication démontrés par analyse. Cette différence est sans doute entraînée par la nécessité d'instauration rapide d'un traitement par les vétérinaires contactant le CNITV. Ainsi dans le cas d'un chien victime de crises convulsives, il est compréhensible qu'un praticien ne prête pas attention aux probables tachycardies,

tachypnées et hyperthermies possiblement concomitantes, et encore moins qu'il n'ait le temps de les mentionner lors de son échange téléphonique avec un centre antipoison. Ainsi bien que les fréquences de ces troubles soient légèrement sous évaluées dans les études rétrospectives réalisées grâce aux données de centres antipoison, il semble néanmoins que les signes cardiorespiratoires graves menaçant la vie de l'animal comme une grave bradycardie, un arrêt cardiaque, une détresse respiratoire ou une apnée soient peu présents car ils n'ont jamais été décrits lors d'un appel au CNITV en plus de 12 ans de durées d'études combinées.

5. Modifications comportementales

Des modifications comportementales des animaux intoxiqués ont été très peu mentionnées en tant que symptômes sur les fiches V-Tox® analysées dans nos 2 études rétrospectives. Bien que quelques cas d'agressivité et d'agitation soient référencés dans la littérature et dans l'étude de Lheureux, ceux-ci semblent globalement assez rares. Il est tout à fait possible que ces fréquences soient une nouvelle fois sous estimées par rapport à la réalité observable, par non considération d'un tel comportement comme un symptôme de la part de certains praticiens. Néanmoins dans les cas d'atteintes graves avec présence de crises convulsives intenses il semble difficile de juger de l'état d'agitation ou d'agressivité d'un animal. De même que pour les signes généraux, les symptômes neuro-musculaires peuvent fortement influencer sur le comportement des chiens intoxiqués, rendant même parfois très dangereuse l'approche de l'animal lors des crises convulsives les plus intenses.

6. Autres symptômes

a) Signes oculaires

Bien que rarement décrits dans les études rétrospectives de Lheureux et Adamczyk et dans quelques cas démontrés présents dans la littérature, des signes oculaires ont aussi été rapportés dans nos 2 études. Ceux-ci étaient plus fréquents dans le travail rétrospectif effectué de 2009 à 2019 (13,5 %) que dans celui recensant des appels reçus par le CNITV en 2021 et 2022 (7 %). Ces fréquences de l'ordre de 10 % sont proches de celles observées par Lheureux dans son étude menée au CAPAE-Ouest et de celles retrouvées dans l'analyse statistique des symptômes des cas d'intoxication bibliographiques. Le seul de ces signes pouvant être considéré comme non anecdotique est la présence d'une mydriase. En effet celle-ci a tout de même été relevée en moyenne chez 1 animal intoxiqué sur 10, ce qui semble signifier que ce signe est très probablement lié à l'effet du toxique. À l'exception de quelques très rares myosis ou cas de cécité, aucun autre signe oculaire n'a été relevé.

Le mécanisme d'action des mycotoxines au niveau oculaire n'a fait l'objet d'aucune publication scientifique, il reste donc à ce jour inconnu. Néanmoins il est possible que l'effet neurotoxique de ces dernières puisse influencer au niveau des nerfs oculomoteurs et de la voie efférente du système nerveux parasympathique responsables de la contraction du muscle sphincter de l'iris, lui-même à l'origine d'un myosis lors de sa contraction. Ainsi une atteinte de ces structures nerveuses suite à une exposition au pénitrem A ou à la roquefortine C pourrait avoir comme conséquence la présence temporaire d'une mydriase.

La présence d'une mydriase, bien que son mécanisme d'apparition soit inconnu, serait le seul signe oculaire observable chez des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes, celui-ci resterait de plus assez rare car il n'affecterait qu'un animal sur 10 en moyenne.

b) Anomalies biochimiques, de l'hémogramme et de l'ionogramme

Le signalement très anecdotique dans nos 2 études d'une augmentation des enzymes hépatiques (PAL, ALAT, ASAT) par les appelants est probablement lié au très faible nombre d'animaux pour lesquels une analyse sanguine a été réalisée. En effet Hayes et Eriksen, ont montré dans leurs études une fréquente augmentation temporaire de l'activité de ces enzymes dans les heures et jours suivant l'exposition au pénitèrène A ou à la roquefortine C (Eriksen et al., 2010; Hayes et al., 1976).

Les quelques neutrophilies modérées mentionnées dans V-Tox® au cours de nos études pourraient-elles être liées à une réponse non spécifique de l'organisme au contact avec ce toxique (Hayes et al., 1976).

Enfin les très rares hypoglycémies et désordres électrolytiques ou ioniques cités dans nos études peuvent tout à fait être expliqués par l'exacerbation de l'activité musculaire des chiens en proie à des crises convulsives ou des trémulations musculaires intenses.

Les anomalies des profils biochimiques, des numérations et formules sanguines et des ionogrammes des chiens intoxiqués seraient probablement fréquentes, si ceux-ci étaient déterminés pour tous les animaux intoxiqués. Néanmoins l'intérêt de la réalisation de ces examens complémentaires semble très limité pour les vétérinaires. En effet une grande part des anomalies potentiellement présentes serait souvent plus liée à l'effet des troubles neuro-musculaires intenses qu'à celui des mycotoxines. De plus la non spécificité de ces modifications n'est d'aucun recours diagnostic pour le praticien et entraîne rarement une adaptation du plan thérapeutique de l'animal, qui recevra un probable traitement symptomatique et éliminatoire de toute manière. Le principal avantage présenté par ces analyses réside dans la possibilité d'exclure d'autres hypothèses dans le diagnostic différentiel du praticien, car celles-ci permettent de vérifier l'intégrité des différents organes de l'animal.

7) Traitement et évolution

1. Traitement

Nos résultats semblent donc montrer l'importance que revêtent les centres antipoison spécialisés dans le domaine de la toxicologie dans le cadre de cette intoxication. En effet pour une très grande majorité des appels reçus, l'ensemble des mesures thérapeutiques adaptées à la lutte contre les effets des mycotoxines trémorigènes n'a été effectuée qu'après prise en compte des conseils du CNITV. Ceci semble témoigner du fait que la plupart des vétérinaires appelant n'avait pas une connaissance parfaite du traitement à administrer à un chien victime d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Leur appel au centre antipoison a été d'un grand intérêt dans la prise en charge thérapeutique de l'animal. Ainsi pour les cas cliniques liés à l'ingestion de ces métabolites fongiques, les centres antipoison sont donc apparemment des ressources très avantageuses et bénéfiques pour les vétérinaires appelants et les animaux à traiter.

L'absence de mise en place d'un traitement pour un animal a été rare au cours de nos 2 études et n'a concerné que des cas d'intoxication sans gravité. Néanmoins en l'absence de signes neuro-musculaires une décontamination digestive est toujours recommandée, ainsi les seuls cas où aucun traitement spécifique n'est nécessaire correspondent à de faibles tremblements ou de légères ataxies où l'usage de la voie orale pour un traitement de décontamination serait alors plus risqué que l'intoxication en raison des faibles troubles présentés par l'animal. Néanmoins ces symptômes pouvant s'aggraver, une surveillance du chien est toujours nécessaire, et le traitement des troubles nerveux toujours possible.

2. Évolution

L'évolution des chiens intoxiqués à posteriori des appels n'est quasiment jamais connue par les centres antipoison. La survie de l'animal ou son décès ne sont connus que pour les suspicions d'intoxications mentionnant des chiens déjà morts ou guéris au moment du contact du CNITV, qui ne représentent qu'un très faible pourcentage de appels dans nos 2 travaux. Ici réside tout l'intérêt d'une étude prospective avec suivi des cas comme nous l'avons envisagé.

B) Étude prospective

1) Limites de l'étude

Certaines limites se sont révélées lors de la réalisation de cette étude. Premièrement lors d'appels émanant de cliniques vétérinaires constituant des centres de cas d'urgences référés, une fois que les animaux étaient revenus à un état permettant leur retour à domicile, leur suivi était en général assuré par les vétérinaires traitants. Ainsi les praticiens recontactés n'avaient que peu d'informations sur l'évolution de l'animal après sa sortie d'hospitalisation.

De même lorsque certains chiens ne présentaient plus des symptômes justifiant la nécessité d'une hospitalisation, tels qu'une ataxie résiduelle ou de très légers tremblements, certains étaient parfois rendus à leurs propriétaires. Un rendez-vous de contrôle de l'état de l'animal quelques jours après la sortie était alors en général réalisé par les praticiens. De ce fait, dans ce type de cas la durée d'évolution des symptômes n'était pas exactement connue.

L'évaluation de la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire a été la composante de cette étude prospective la plus soumise à des biais. En effet de prime abord, il faut signaler qu'une majorité des praticiens appelant le CNITV pour des renseignements sur un toxique ou un traitement ne possède en général pas ou que peu de connaissances à ce sujet. C'est d'ailleurs ce qui constitue en général la raison de leur appel. Ainsi il est concevable qu'un vétérinaire ayant connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes et du traitement adapté à l'intoxication causée par des aliments moisissés ou du compost, n'ait pas d'intérêt à contacter un centre antipoison. Ainsi le pourcentage de vétérinaires, n'ayant pas connaissance de l'existence et de la toxicité des mycotoxines trémorigènes dans cette étude, est probablement sur-évalué en raison d'un fort biais de sélection de ceux-ci. Cependant de nos jours l'accès facile des vétérinaires à des guides de toxicologie ou des sites internet spécialisés dans les toxiques fréquemment rencontrés en médecine vétérinaire, limite probablement cette sur-estimation.

Enfin de même que dans les études rétrospectives menées au CNITV la très grande majorité de ces intoxications aux mycotoxines reste uniquement des suspicions, en l'absence d'analyses des substrats alimentaires ingérés ou d'échantillons biologiques provenant des chiens intoxiqués.

2) Évolution des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes

1. Taux de létalité

En comptant les animaux décédés naturellement suite à l'intoxication et ceux ayant été euthanasiés en raison de la présence de graves séquelles ou de trop grandes souffrances, un taux de létalité de 8 % des chiens intoxiqués a été observé dans cette étude, alors que celui-ci n'était que de 1,5 % lors des appels au CNITV. Cette valeur est proche et intermédiaire de celles trouvées par Adamczyk (5,4 %) et Lheureux (10,1 %), mais bien inférieure à celle calculée pour les cas démontrés d'intoxications dans la littérature (17,2 %). Néanmoins seuls les cas d'atteintes graves sont en général à l'origine de publications scientifiques, ainsi cette dernière valeur semble élevée par rapport à celle déterminée dans notre étude prospective. Ainsi le taux de létalité de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes serait probablement de l'ordre de 5 à 10 %.

1 seul chien est mort naturellement après le contact du CNITV et ce 11 h après son entrée en hospitalisation, tous les autres chiens ayant succombé ont été euthanasiés. Aucun animal n'est donc décédé après une longue période de convalescence durant laquelle son état se serait dégradé progressivement. Ainsi de même que dans les cas démontrés d'analyse présentés dans la littérature et dans ceux recensés dans l'étude de Lheureux aucun animal n'est décédé naturellement plus de 48 h après l'intoxication. Il semblerait donc qu'une fois la phase initiale des troubles passée, le pronostic vital des animaux ne soit plus mis en jeu lors de cette intoxication aiguë. Néanmoins la présence de graves séquelles chez ces derniers a parfois justifié leur euthanasie après ce délai.

Ainsi lors de la réception d'un chien suspecté d'être intoxiqué aux mycotoxines trémorigènes par un praticien vétérinaire la connaissance du taux de létalité de cette intoxication, probablement situé entre 5 et 10 %, et de l'absence de menace pour la survie de l'animal une fois la phase initiale de troubles neuro-musculaires majeurs passée, d'une durée maximale de 48 h, peut être utile lors de leur formulation d'un pronostic pour l'animal auprès des propriétaires.

2. Taux de rémission et délai de récupération

Une rémission totale des symptômes a été observée dans une immense majorité des cas de cette étude.

Un délai de récupération des animaux inférieur à 12 h a été observé dans 1 appel sur 5 au cours de cette étude, et 55 % et 66 % des animaux ne présentaient plus de symptômes respectivement 24 et 48 h après leur présentation initiale à un vétérinaire. Enfin seuls 8 % des appelants ont signalé une période de rémission de symptômes de plus de 48 h. Ces résultats témoignent donc d'une rare persistance de signes cliniques de l'intoxication chez les chiens intoxiqués, plus de 2 jours après l'instauration de mesures thérapeutiques par un professionnel de la santé animale, comme cela avait été remarqué avec les cas démontrés d'intoxication où 62,5 % des chiens ne présentaient plus de symptômes 48 h après leur entrée en hospitalisation. Néanmoins le temps de récupération des chiens inclus dans cette

étude était inconnu chez tout de même près d'un animal sur 5. Une partie de ceux-ci présentait encore des symptômes légers ne mettant pas leur pronostic vital en jeu lorsqu'ils ont été rendus à leurs propriétaires ou lorsqu'ils ont été revus quelques jours plus tard par leurs vétérinaires lors de visites de contrôle. Ainsi les cas de rémissions longues sont donc probablement légèrement sous évalués dans notre étude, où seuls 3% des chiens ont nécessité plus de 4 jours pour retrouver leur état initial, contre légèrement plus de 15% des cas d'intoxication démontrés.

3. Séquelles

Les résultats de notre étude, au sujet de la persistance exceptionnelle de séquelles chez des chiens victimes d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, semblent donc similaires aux conclusions de Munday et ses coauteurs selon lesquels : lorsque le chien survit à l'intoxication ses symptômes rétrocedent en général en moins de 4 jours (J. S. Munday et al., 2008). Néanmoins de très rares cas démontrés par analyse dans la littérature et quelques mentions dans notre étude témoignent de l'existence de séquelles constituées essentiellement de légers troubles neuro-musculaires, pouvant persister chez les chiens gravement intoxiqués durant quelques mois à plusieurs années.

En conclusion, l'intoxication des chiens aux mycotoxines trémorigènes est mortelle dans seulement 5 à 10 % des cas, et le pronostic vital de l'animal n'est en général plus engagé 48 h après le début des symptômes. De plus si l'animal ne succombe pas à l'intoxication, dans une très grande majorité de cas une rémission totale des symptômes est attendue dans les 12 h à 4 jours suivant la mise en place d'un traitement par un vétérinaire. Néanmoins lors de crises convulsives très sévères dans la phase initiale de l'intoxication, il peut arriver exceptionnellement que les chiens puissent conserver de légères séquelles telles que de tremblements ou une ataxie résiduelle durant une période de quelques jours à plusieurs mois, et même exceptionnellement quelques années.

3) Prise en charge des animaux intoxiqués par les praticiens

1. Hospitalisation des animaux

a) Taux d'hospitalisation

Près de 9 animaux sur 10 présentés chez un vétérinaire ayant contacté le CNITV ont été hospitalisés. À une exception près lors du refus d'hospitalisation de la part d'un propriétaire contre l'avis du praticien, tous les autres animaux hospitalisés ne présentaient pas de troubles assez graves pour justifier une nécessité de garder l'animal sous surveillance d'un professionnel de santé animale. Ces données démontrent que dans une extrême majorité des cas les vétérinaires ont estimé qu'il était nécessaire que l'animal reste en hospitalisation afin de pouvoir lutter au mieux contre les effets du toxique.

Ce fort taux d'hospitalisation est probablement aussi en partie lié à la présence de troubles neuro-musculaires dans près de 100 % des cas d'intoxication, ceux-ci sont très difficilement supportables pour un propriétaire. Cependant l'hospitalisation est surtout nécessaire afin d'assurer un traitement symptomatique et de décontamination régulier, efficace et rapide à l'animal empoisonné, notamment dans le but de faire rétroceder les troubles neuro-musculaires pouvant engager le pronostic vital de ce dernier. La gestion d'un chien intoxiqué aux mycotoxines trémorigènes victime de troubles nerveux

est donc strictement réservée aux vétérinaires et une hospitalisation est quasi systématiquement nécessaire pour une prise en charge adéquate de l'animal.

b) Durée d'hospitalisation

En partant du principe que les sorties d'hospitalisation ne concernent que les animaux dont le pronostic vital n'est plus engagé et dont l'état de santé est assez bon pour permettre son retour à domicile, il est possible de déduire de nos résultats que dans la très grande majorité des cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes recensés dans cette étude, après 48 h de mise en place de mesures thérapeutiques adaptées les symptômes neuro-musculaires diminuent très fortement ou disparaissent.

Ainsi les traitements thérapeutiques mis en place par les praticiens suite aux conseils du CNITV semblent être suivis dans plus de 90 % des cas d'une très forte diminution et même le plus souvent d'une disparition des convulsions ou tremblements généralisés. Ceux-ci apparaissent donc comme très adaptés à la prise en charge de chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes.

Enfin la durée d'hospitalisation n'est pas le strict synonyme de la durée nécessaire à la disparition de tous les symptômes de l'animal, car dans 39 % des cas de cette étude les chiens intoxiqués ont été rendus à leurs propriétaires lorsqu'ils présentaient encore au moins un symptôme, mais que celui-ci (ou ceux-ci) n'était(ent) pas d'une importante gravité. En grande majorité il s'agissait de légers tremblements, ou d'une faible ataxie résiduelle. Quelques diarrhées ont aussi été recensées.

En conclusion lors de la mise en place du traitement symptomatique et éliminatoire adéquat, généralement conseillé par les centres antipoison, les troubles neuro-musculaires graves des chiens intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes rétrocedent fortement ou disparaissent en moins de 48 h. Ceci explique probablement l'absence de décès naturels à postériori de ce délai dans nos études et dans les publications de cas démontrés par analyses.

2. Traitements administrés

a) Nature des traitements

Traitements éliminatoires :

L'usage de charbon végétal activé comme adsorbant est le seul traitement éliminatoire ayant été fréquemment utilisé par les praticiens au cours de notre étude. Ceci s'explique probablement en raison de sa disponibilité en médecine vétérinaire sous forme liquide, de sa facilité d'administration, de l'utilisation habituelle de ce produit par les praticiens et de son faible coût. Les autres décontaminants digestifs tels que les laxatifs ou les substances émétiques ont été très rarement utilisés, cela est très probablement à relier au fort taux de vomissements spontanés dans cette étude. De plus la présence de symptômes nerveux a parfois pu empêcher les praticiens d'avoir recours à l'usage d'agents thérapeutiques administrables par voie orale ou à des vomitifs en raison du risque de fausse déglutition associé.

L'usage d'ELI comme moyen de décontamination des animaux a été rare dans notre étude. La faible utilisation de ce principe thérapeutique dont l'utilisation est pourtant vivement recommandée dans

la littérature (Gwaltney-Brant and Meadows, 2018; Kormpou et al., 2018) pour de nombreux toxiques est liée à son coût important, à sa faible durée de conservation une fois entamé et à sa difficulté d'approvisionnement. Ainsi ces poches à perfusion sont encore assez peu répandues dans les cliniques vétérinaires de tailles restreintes sans service spécifique dédié aux urgences, de nombreux praticiens n'ont donc pas immédiatement accès à ce moyen thérapeutique lors de la réception d'un chien intoxiqué aux mycotoxines trémorigènes, et dont le traitement doit être instauré dans les plus brefs délais.

Traitements symptomatiques :

-Mise sous perfusion :

Tous les animaux hospitalisés ont été mis sous perfusion de fluides isotoniques au cours de leur hospitalisation. L'omniprésence de ce traitement est probablement liée à la mise en place systématique d'un cathéter aux animaux hospitalisés, lui-même posé afin de disposer d'une voie veineuse permettant d'administrer un agent thérapeutique à effet très rapide dont notamment des anti-convulsivants dans le cadre de cette intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Bien que très intéressante pour permettre l'hydratation des chiens en incapacité de s'abreuver en raison de leurs symptômes neuro-musculaires, celle-ci a été en réalité plus souvent mise par réflexe de la part des praticiens. En effet un grand nombre d'entre eux ont signalé mettre quasiment en permanence les animaux victimes d'intoxication sous perfusion de fluides isotoniques. En cas de toxiques à élimination majoritairement urinaire cette mesure thérapeutique présente donc, outre la réhydratation et le maintien d'une vie veineuse, un réel intérêt de décontamination. Cependant cela ne concerne pas le pénitrem A et la roquefortine C à excrétion majoritairement digestive.

-Traitement des troubles neuro-musculaires :

Dans 76 % des appels mentionnant la présence de troubles nerveux chez un chien intoxiqué, les vétérinaires ont eu recours à l'usage de molécules anti-convulsivantes dans le traitement de l'animal. Les praticiens n'y ayant pas eu recours l'ont très majoritairement justifié en raison de l'unique présence de faibles tremblements ou d'une légère ataxie chez les chiens à traiter, ne nécessitant donc pas l'usage de ces agents thérapeutiques.

Un total de 10 molécules différentes a été utilisé par les vétérinaires recontactés suite à leur sollicitation initiale du CNITV pour un chien intoxiqué aux mycotoxines trémorigènes. Le recours quasi systématique au diazépam en première intention de la part des praticiens est sans doute lié à l'usage habituel et fréquent de celui-ci par une très grande proportion des vétérinaires Français lors de protocoles anesthésiques ou d'intoxications à d'autres convulsivants que les mycotoxines trémorigènes. L'omniprésence, quasi certaine, de ce produit dans les réserves de médicaments de toutes les cliniques vétérinaires Françaises, son faible coût, sa rapidité d'effet et sa grande marge thérapeutique expliquent aussi le fréquent recours à cette molécule lors d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes.

Le midazolam et le lévétiracétam (en bolus) ont été utilisés en première intention par les vétérinaires, et ces appelants exerçaient tous dans des complexes vétérinaires dotés de services spécialisés en gestion des urgences. Ces rares utilisations émanant uniquement de services dédiés à l'urgence témoignent de la faible présence de ces molécules dans les cliniques vétérinaires Françaises, en particulier dans celles de taille restreinte ne disposant pas d'un équipement uniquement dédié à l'urgence et aux soins intensifs. En revanche il semblerait donc de nos jours que dans les structures

dédiées spécifiquement aux urgences animales, le recours en première intention au midazolam ne soit pas rare, au contraire de celui du lévétiracetam qui semblerait plus anecdotique, probablement en raison de son coût (Barker et al., 2013).

Les barbituriques injectables ont été utilisés uniquement en raison d'une inefficacité d'effet anti-convulsivant d'un ou plusieurs bolus de diazépam, ils n'ont donc jamais été utilisés en première intention dans cette étude. L'absence d'utilisation de cette famille de molécule comme premier agent thérapeutique lors de troubles neuro-musculaires est très probablement lié à leur marge thérapeutique plus faible que celle des benzodiazépines, malgré un effet anti-convulsivant plus large (Source : https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/barbiturates_fr). En effet l'utilisation la plus fréquente du phénobarbital sous forme injectable en milieu vétérinaire se trouve être liée à la gestion de crises convulsives lors de contextes d'épilepsie. Ce produit n'est pas fréquemment disponible dans les cliniques vétérinaires de petites tailles en raison de l'existence de formes orales de ce principe actif plus simple à administrer quotidiennement pour les propriétaires de chiens épileptiques. Ce qui est regrettable car cette molécule possède une marge thérapeutique supérieure à celle du pentobarbital. Au contraire le pentobarbital sous forme injectable est lui quasiment présent dans 100 % des structures vétérinaires Françaises en raison du fait que plusieurs des substances euthanasiques les plus couramment utilisées en médecine canine et féline sont constitués uniquement de cette molécule (DOLETHAL®, EUTHASOL®, EXAGON®...). Ainsi bien qu'en permanence disponibles pour les vétérinaires, les préparations à base de pentobarbital ne semblent que très peu utilisées lors d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes, probablement en raison de la peur du décès de l'animal en cas de surdosage de ces dernières.

Le recours aux α 2-agonistes (médétomidine, dexmédétomine) a été relativement fréquent par rapport aux autres familles d'anti-convulsivants. Cependant certains d'entre eux ont utilisé ces molécules juste dans un but de tranquillisation de l'animal pour la pose d'une voie veineuse et non pas pour son effet anti-convulsivant. Les autres y ont eu recours suite aux conseils du CNITV, après l'inefficacité des bolus de diazépam dans la gestion des convulsions. Des anesthésiques dissociatifs dont notamment la kétamine ou le propofol ont quelques fois été associé à ces α 2-agonistes. Ces 2 types d'anesthésiques sont souvent quotidiennement utilisés par les praticiens et disposent d'une marge thérapeutique assez importante, ceci explique peut-être l'utilisation plus fréquente des α 2-agonistes que celles d'autres anti-convulsivants dans cette étude. Enfin de l'acépromazine a été employée à une seule reprise au cours de cette étude. Il faut néanmoins souligner que les molécules de ces 2 familles induisent uniquement une sédation ou une anesthésie des animaux. Ceux-ci sont alors parfois immobiles mais les convulsions sont en réalité toujours présentes et détectables sur leurs électroencéphalogrammes (Hikasa et al., 1993).

Au final, les résultats de cette étude témoignent d'une très fréquente utilisation du diazépam en première intention dans le but de diminuer les tremblements et convulsions des chiens suspectés d'être intoxiqués aux mycotoxines trémorigènes. Le recours à d'autres molécules en première intention serait à l'heure actuelle faible probablement en raison de leur fréquente absence de disponibilité immédiate dans le cas du midazolam et du lévétiracetam ou d'un risque de surdosage pour les barbituriques. Les appels émis vers un centre antipoison suite à l'inefficacité d'un ou plusieurs bolus de diazépam poussent cependant parfois les praticiens à utiliser d'autres familles d'anti-convulsivants.

-Traitement des troubles digestifs :

Les traitements des troubles digestifs ont été globalement peu détaillés par les praticiens rappelés au cours de cette étude. Seule l'utilisation d'antiémétiques, dont notamment ceux à base de citrate de maropitant, sous forme injectable a été fréquente. Celle-ci a été justifiée en grande majorité par les praticiens dans le but de limiter les risques de fausses déglutitions chez des animaux en proie à des troubles nerveux importants.

Très peu de vétérinaires ont administré un pansement digestif aux animaux. Cette faible utilisation est probablement liée à la priorité donnée au traitement décontaminant de la part des praticiens à l'aide d'adsorbants, et à la faible manifestation des douleurs abdominales par les animaux en comparaison aux tremblements et aux convulsions qui sont de ce fait bien plus souvent traités. Ces résultats semblent donc montrer que les traitements des troubles digestifs semblent souvent négligés dans le cas de gestions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes, malgré la forte possibilité d'irritation digestive lors de l'ingestion de coquilles de noix.

-Autres traitements symptomatiques :

De nombreux autres traitements symptomatiques ont été mis en place par moins de 8 % des praticiens recontactés dans cette étude. Si certains présentent un grand avantage dans la gestion des cas d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, dont notamment l'usage de morphiniques dans la gestion de la douleur ou d'un antiacide pour limiter les dommages au niveau de la muqueuse gastrique souvent altérée, d'autres ne sont au contraire que d'un faible intérêt. En effet l'usage de furosémide dans le but de favoriser l'excrétion urinaire d'un toxique à élimination très majoritairement fécale (Laws et al., 1987) semble peu pertinente, d'autant plus que celui-ci peut entraîner une chute du volume sanguin ce qui augmente les risques de dommages rénaux, provenant d'une potentielle myoglobinurie secondaire à une rhabdomyolyse induite par des convulsions (Barker et al., 2013). L'emploi d'un antibiotique lors d'une étiologie non infectieuse, de vitamine B1 et B6 en l'absence de carences ou de N-acétylcystéine ne semblent que peu intéressants dans le cas d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. Aucune mention sur l'effet ou l'intérêt d'administration de ces traitements, dans ce contexte, n'est présente dans la littérature.

L'administration d'un hépato protecteur pourrait potentiellement limiter l'atteinte hépatique modérée et transitoire, faisant suite à l'exposition à ce toxique, relevée par certains auteurs (Eriksen et al., 2010; Hayes et al., 1976). Les corticoïdes pourraient théoriquement permettre de diminuer l'hyperthermie des chiens en raison de leur effet antipyrétique. Les compléments alimentaires dont notamment ceux à base d'argile, de prébiotiques ou de probiotiques auraient, eux, un potentiel intérêt dans la limitation du nombre et de l'intensité des potentielles diarrhées post intoxication, et dans la restauration de la flore digestive des chiens empoisonnés. Enfin un lavage buccal permet, comme toute mesure de décontamination digestive, de limiter l'exposition de l'animal au toxique.

De nombreux traitements symptomatiques très variés ont été mis en place au cours de cette étude si la majorité d'entre eux présentaient un intérêt dans le traitement de l'animal, quelques-uns apparaissent néanmoins comme peu opportuns dans le cadre d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes.

b) Durée du traitement

La durée d'administration de charbon végétal activé a été d'en moyenne 24 à 48 h. Celle-ci parfois été poursuivie après l'hospitalisation par le propriétaire tout comme celle de pansements digestifs. Ainsi

les traitements par voie orale présentent l'avantage de pouvoir être poursuivis à domicile. L'intérêt de poursuivre l'administration de charbon végétal activé est cependant discutable, en effet celle-ci serait très utile dans le cas de l'existence d'un cycle entéro-hépatique pour les mycotoxines trémorigènes (Barker et al., 2013), néanmoins comme évoqué une fois la phase initiale de l'intoxication passée pour l'animal les symptômes rétrocedent rapidement sans risque de rechute dans une très grande majorité des cas. L'administration de pansements digestifs plusieurs jours après l'intoxication présente elle un réel avantage en termes de limitation de l'inconfort digestif, et de restauration de l'intégrité de la muqueuse intestinale potentiellement altérée par les substrats ingérés, notamment lors d'intoxications causées par la consommation de noix moisis dont les coquilles peuvent être abrasives.

La durée d'utilisation des anti-convulsivants a été très variable en fonction des différents cas cliniques dans cette étude. Aucun animal n'a nécessité une répétition de bolus d'anti-convulsivants sur une période de plus de 48 h dans cette étude. Enfin lors des rares mises en place de CRI à base d'un principe actif anti-convulsivant, celles-ci ont été administrées sur des durées variables allant de 8 h à 3 jours.

La durée du traitement des troubles neuro-musculaires liés à l'effet de mycotoxines trémorigènes chez les chiens semble donc très variable selon le cas. Le principal facteur de variation semble être la réponse de ces symptômes aux premières molécules anti-convulsivantes employées. Néanmoins il semblerait bien que dans la grande majorité des cas les anti-convulsivants ne nécessitent pas une durée d'administration de plus de 48 h.

c) Réponses des animaux aux traitements administrés

Réponses des animaux suite à l'administration d'ELI :

Le nombre de descriptions des réponses des animaux suite à une administration d'ELI est faible dans notre étude, seules 4 ont en effet été recensées. Les taux d'échec de celles-ci dans la diminution de l'intensité des crises convulsives et des tremblements généralisés sont respectivement de 0 % et de 50 % selon les vétérinaires rappelés. Les trémulations musculaires seraient donc, selon nos résultats, plus souvent réfractaires et persistantes suite à l'usage de cette méthode de décontamination, que les convulsions. Néanmoins de même que dans la publication de Korompou et ses collaborateurs, démontrant la diminution du taux de létalité et de la durée des symptômes de cette intoxication grâce à l'utilisation systématique d'ELI comme moyen thérapeutique (Korompou et al., 2018), cette interprétation est limitée par l'utilisation conjointe d'autres agents thérapeutiques dont notamment le midazolam ou le diazépam dans ces 4 cas précis et par l'absence d'un groupe témoin. L'idéal est donc de pouvoir associer ces 2 traitements simultanément. Ainsi dans l'espèce canine l'administration conjointe d'ELI simultanément à d'autres agents anti-convulsivants dont notamment les benzodiazépines semble très fréquemment suivie d'une diminution d'intensité des convulsions liées à la consommation de mycotoxines trémorigènes. L'arrêt des tremblements généralisés semble lui en revanche inconstant suite à cette mesure thérapeutique.

Réponses des animaux suite à l'administration d'anti-convulsivants :

Dans notre étude, plus de 40 % des convulsions probablement liées à une exposition aux mycotoxines trémorigènes ont été réfractaires au diazépam. Cette valeur témoigne tout de même du très grand intérêt de ce principe actif dans ces cas d'intoxication. Ainsi sachant que lorsqu'elle a été utilisée cette molécule l'a quasiment été systématiquement en première intention, les presque 6 chiens sur 10 dont

les troubles neuromusculaires ont diminué en intensité suite à l'administration de ce traitement n'ont alors nécessité aucune administration d'un autre agent anti-convulsivant. Bien que cette amélioration clinique ne soit pas prouvée comme secondaire à l'effet du diazépam, en l'absence de groupe témoin.

De plus il ne faut pas perdre de vue la disponibilité permanente de ce produit dans la quasi-totalité des cliniques vétérinaires Françaises, ce qui est un atout de taille dans les contextes d'urgences. De même, sa grande marge thérapeutique, la possibilité répétition des bolus de cette molécule et l'absence de rapport d'effets indésirables liés à son utilisation dans notre étude sont encore des avantages à la charge de ce principe actif. Enfin sa possibilité d'administration par voie rectale est un atout non négligeable lors de crises convulsives de forte intensité rendant très complexe et dangereuse la mise en place d'une voie veineuse. Ainsi l'administration de bolus intraveineux de diazépam en première intention est totalement justifiée dans le cas d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes. Cette mesure thérapeutique simple, peu onéreuse, réalisable quasiment en permanence et présentant très peu de risques pour l'animal permettrait en effet à elle seule selon nos résultats, une amélioration clinique chez plus d'un animal sur 2.

Les estimations de l'absence d'efficacité des autres molécules, utilisées en première intention dans le traitement des crises convulsives et des trémulations musculaires, sont moins interprétables en raison de leur faible nombre. Néanmoins il semblerait que les échecs d'efficacité du midazolam dans le but de diminuer les tremblements des chiens intoxiqués ne soient pas rares. De plus des convulsions réfractaires à ce principe actif, plus cher et difficile à se procurer pour un vétérinaire que le diazépam, ont aussi été recensées dans cette étude. Nos résultats ne permettent pas de juger d'une efficacité relative du midazolam par rapport à celle du diazépam, dans la diminution des troubles neuro-musculaires suspectés d'être spécifiquement liés à l'effet de mycotoxines trémorigènes.

L'évolution des animaux suite à l'administration d'autres traitements anti-convulsivants dans cette étude n'a quasiment été observée qu'après un ou plusieurs bolus initiaux de diazépam.

L'effet des $\alpha 2$ -agonistes associés ou non à des anesthésiques dissociatifs sur les crises convulsives et les trémulations musculaires engendrées par des mycotoxines est variable selon les résultats de notre étude. Si dans certains cas une diminution des troubles de l'animal a fait suite à l'administration de chacun de ces principes actifs, les troubles neuro-musculaires des chiens y ont été réfractaires dans d'autres, leur effet est donc inconstant.

Concernant les barbituriques, bien que le nombre d'observations d'évolutions d'animaux suite à leur administration ait été faible, il semblerait que ces molécules présentent un réel intérêt sous forme de CRI dans la gestion des troubles neuro-musculaires liés à l'ingestion de mycotoxines trémorigènes, aucun trouble nerveux n'y ayant été réfractaire dans notre étude. En revanche sous forme de bolus des cas de convulsions et de tremblements réfractaires aux barbituriques ont été signalés par les vétérinaires interrogés. Le phénobarbital apparaîtrait, d'après nos résultats, plus souvent inefficace que le pentobarbital dans l'objectif de diminution de ces troubles neuromusculaires.

De plus 2 observations intéressantes ont été effectuées par des praticiens rappelés au cours de notre étude. La première est qu'un principe actif peut être inefficace sous forme de bolus injectable, mais que son administration sous forme de CRI peut être suivie d'une diminution des troubles nerveux chez l'animal. La seconde est que suite à l'injection d'un agent anti-convulsivant spécifique, une atténuation ou une disparition des convulsions et/ou des tremblements réfractaires à de nombreux autres principes actifs peut être observée.

En conclusion ces résultats semblent indiquer que bien que non efficaces à de nombreuses reprises, les bolus intraveineux de diazépam ont tout de même été suivis d'une forte diminution des convulsions et des tremblements généralisés dans près de 60 % des cas d'intoxication. L'évolution des chiens suite à l'administration d'autres molécules est plus complexe à déterminer en raison du faible nombre de leur utilisation dans cette étude et de l'administration simultanée d'autres principes actifs ou mesures thérapeutiques. Néanmoins il semblerait que les troubles neuromusculaires secondaires à l'action de mycotoxines trémorigènes soient également fréquemment réfractaires aux autres benzodiazépines, aux $\alpha 2$ -agonistes, aux barbituriques et aux agents anesthésiques dissociatifs. Enfin il faut souligner qu'aucun vétérinaire n'a fait mention d'une quelconque aggravation de l'état de l'animal ou de l'apparition d'un nouveau symptôme suite à l'administration d'une des molécules de ces familles d'anti-convulsivants. De plus comme certains cas présentés le démontrent, l'administration de barbituriques (en bolus ou sous forme de CRI) ou d' $\alpha 2$ -agonistes associés ou non à des anesthésiques dissociatifs est parfois suivie d'une diminution de troubles neuro-musculaires réfractaires à d'autres molécules anti-convulsivantes, dont notamment le diazépam. Un fort intérêt de recourir à différentes familles de molécules en cas d'un échec d'efficacité d'un anti-convulsivant semble donc ressortir des résultats de cette étude, de même qu'un rapport bénéfice risque très favorable à l'administration de diazépam comme première mesure thérapeutique.

4) Diagnostic de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

1. *Origine de la suspicion*

a) Éléments à l'origine de la suspicion

Pour la grande majorité des appelants l'anamnèse a joué un rôle prépondérant dans la suspicion d'une intoxication à un aliment moisi ou du compost. Ces résultats coïncident avec les conclusions de nombreux auteurs dans la littérature selon lesquels l'anamnèse est de très loin l'élément entraînant le plus souvent la suspicion d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans l'espèce canine (Adamczyk et al., 2016; Parker and Scott, 2004; Waratuke, 2017).

Très peu de vétérinaires dans cette étude ont suspecté ce toxique uniquement en raison des signes cliniques présentés par l'animal. Ceci s'explique sûrement par le manque de spécificité de ces derniers. Enfin encore moins de vétérinaires ont contacté le centre antipoison en suspectant une intoxication sans aucune suspicion d'un toxique spécifique, ce qui peut signifier qu'en l'absence totale d'hypothèse diagnostique précise les vétérinaires ne contactent pas forcément un centre antipoison de façon régulière, où que les mycotoxines trémorigènes ne sont pas non plus constamment suspectées par le permanent du centre antipoison.

Ces résultats démontrent également que lorsqu'un chien présente des troubles neuro-musculaires non spécifiques, l'anamnèse des propriétaires et certains éléments épidémiologiques (atteinte simultanée de plusieurs animaux, cas en série dans une même région, saison hivernale...), sont souvent suffisants pour entraîner la suspicion d'une origine toxique de ces symptômes. En effet dès lors qu'un praticien commet la démarche de contacter un centre antipoison, cela signifie qu'il intègre au minimum un toxique dans son diagnostic différentiel. De plus comme cela a été évoqué dans la partie (Partie II ; III) B) 5) 1.) les mycotoxines trémorigènes ne sont pas toujours suspectées par les appelants, lors du contact du CNITV, cependant l'implication des noix moisies, de compost, d'aliments altérés ou de contenu de poubelles l'est plus fréquemment en raison de leur mention dans le récit de l'anamnèse

du propriétaire. Le rôle des centres antipoison dans ce type d'appel est alors fondamental, les permanents doivent effectivement alors informer les praticiens de la possibilité d'intoxication de l'animal par des mycotoxines à effet neurotoxique potentiellement présentes dans le substrat ingéré. De plus ces derniers, agissant en tant que spécialistes en toxicologie, doivent confirmer ou infirmer la suspicion des praticiens lors de ces appels.

b) Éléments clefs de l'anamnèse

L'anamnèse est donc l'élément prépondérant entraînant le plus fréquemment la suspicion de responsabilité d'un substrat potentiellement source de mycotoxines trémorigènes, dans des contextes d'occurrence troubles neuro-musculaires chez un chien. Au sein même de ces récits de la part des propriétaires, les vétérinaires recontactés ont signalé la présence de certains éléments ayant été très en faveur de l'implication de ce toxique dans les troubles présentés par l'animal. En effet 3 faits sont revenus à plusieurs reprises dans le récit des propriétaires :

-La consommation du substrat alimentaire suspecté a été observée personnellement par de nombreux propriétaires.

-Certains propriétaires ont signalé la présence de noyers dans le jardin de leur domicile, sans avoir observé la consommation de noix par l'animal.

-Quelques propriétaires ont rapporté que leur chien consommait régulièrement des noix moisies sans que cela ne lui cause habituellement un quelconque trouble.

Ainsi la présence d'un de ces 3 scénarios au sein du récit de l'anamnèse d'un propriétaire présentant son chien en consultation suite à l'apparition de symptômes neuro-musculaires, et en particulier de celui de la confirmation visuelle d'une consommation d'un substrat potentiellement source de mycotoxines trémorigènes, doit entraîner une forte suspicion de l'implication de ces métabolites fongiques dans les troubles présentés par l'animal de la part du vétérinaire. Des éléments anamnestiques très similaires avaient déjà été décrits dans la littérature comme fortement suggestifs d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes (Barker et al., 2013).

c) Intérêt de l'analyse du contenu des vomissements

D'après nos résultats l'observation d'éléments indicateurs de la consommation d'aliments moisis ou de noix constitue un élément incontournable dans le diagnostic de cette intoxication car cela peut permettre de totalement certifier l'ingestion d'un substrat potentiellement source de mycotoxines trémorigènes.

Précisément lorsque le substrat alimentaire suspecté d'être ingéré se trouve être des noix moisies des morceaux de coquilles, de cerneaux et de brous présents dans un contenu liquidien noirâtre ont plusieurs fois été décrits. Dans les cas de consommation d'aliments moisis la couleur et la composition des vomissements est variable, un contenu liquidien blanchâtre ou verdâtre serait cependant fréquemment décrit, de plus il est souvent possible de reconnaître macroscopiquement certains types d'aliments dans les substances émétiques. Enfin lors de la consommation de compost des vomissements noirâtres ont été mentionnés. Une odeur nauséabonde des substances régurgitées par

les animaux a également été presque systématiquement décrite par les appelants au cours de cette étude.

Enfin certains praticiens ont souligné qu'en l'absence de l'analyse des vomissements des animaux, ils n'auraient jamais placé la consommation d'une source de mycotoxines trémorigènes au sein de leurs hypothèses diagnostiques.

L'analyse des vomissements par les propriétaires ou les vétérinaires est donc absolument fondamentale lorsqu'elle est réalisable dans le cadre d'une intoxication canine, en présence de troubles neuro-musculaires chez l'animal. Les vétérinaires ne doivent pas hésiter à demander une description précise du contenu des substances émétiques lorsque leur émission a eu lieu avant la présentation en clinique du chien. De plus lorsque l'état de l'animal ne contre indique pas l'induction de vomissements, cette manœuvre thérapeutique peut donc être à la fois d'un grand intérêt diagnostic en plus de son rôle de décontamination. Enfin l'analyse des substances émétiques peut parfois être le seul élément à l'origine de la suspicion d'une origine toxique des troubles neuro-musculaires et digestifs présentés par un animal.

2. Diagnostic différentiel

De même que lors de l'étude rétrospective menée sur 11 ans au CNITV, le nombre d'autres causes faisant partie d'au moins 1 diagnostic différentiel d'un praticien, interrogé dans ce travail prospectif, a été très élevé et a concerné des groupes de toxiques très variés (convulsivants, pesticides, végétaux, aliments, champignons, rodenticides...). Les hypothèses diagnostiques d'origine non toxique étaient aussi très diverses (tumoraux, infectieuses, inflammatoires, congénitales, idiopathiques...) et concernaient un grand nombre d'organes différents. De plus aucun toxique n'a à nouveau fréquemment été retrouvé dans le diagnostic différentiel de plusieurs vétérinaires, ce qui semble confirmer les observations faites lors de l'étude rétrospective, à savoir qu'aucun autre toxique spécifique n'est très fréquemment suspecté conjointement aux mycotoxines trémorigènes. Au contraire ce sont plutôt une multitude de substances toxiques différentes qui font au cas par cas partie des diagnostics différentiels des praticiens. Cet aspect est probablement aussi dû en grande partie à l'absence de spécificité des symptômes fréquemment décrits lors de cette intoxication.

Ces observations coïncident avec le très vaste diagnostic différentiel symptômes neuro-musculaires de l'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes décrit dans la littérature (Première partie II) C) 1)2.a)). Ces résultats nous indiquent que dans la majorité de ces cas d'intoxication aucune autre piste diagnostique n'est envisagée. Néanmoins lorsque d'autres causes sont suspectées la nature de celles-ci semble surtout variable en fonction des circonstances de l'intoxication, les signes cliniques des animaux atteints étant eux peu spécifiques.

5) Épidémiologie de l'intoxication

1. Répétition de cas d'intoxication sur une même période

a) Zone à risque

Pour environ 50 % des praticiens rappelés au cours de cette étude prospective, aucun autre chien de leur clientèle actuelle n'avait par le passé été victime de troubles liés à l'ingestion de mycotoxines

trémorigènes. L'autre moitié des vétérinaires avait déjà eu à faire face dans leur lieu actuel d'exercice à au moins un autre chien victime de ces métabolites fongiques.

Ces résultats semblent indiquer que l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes serait tout aussi fréquente dans les zones où elle a déjà eu lieu par le passé que dans d'autres territoires. Néanmoins un biais de sélection important est présent dans ces résultats. En effet les vétérinaires étant souvent confrontés à ce type d'intoxication ont connaissance du traitement à administrer à l'animal et ne contactent donc sûrement pas un centre antipoison tel que le CNITV, au contraire de ceux n'ayant jamais eu à traiter une telle pathologie. Ainsi le pourcentage de vétérinaires n'ayant jamais été confrontés à cette intoxication est probablement fortement surévalué dans cette étude par rapport à sa valeur réellement observable sur le terrain.

b) Période à risque

La majorité des vétérinaires recontactés, suite à une suspicion d'intoxication canine aux mycotoxines trémorigènes, a signalé l'occurrence de consultations pour le même motif lors de la même période annuelle les années passées.

Ces résultats semblent signaler que des intoxications canines suspectées être dues à une consommation d'un substrat contaminé par des mycotoxines trémorigènes seraient plus fréquemment présentées à des vétérinaires praticiens sur certaines périodes spécifiques de l'année. Ces cliniques recevraient alors des « séries » de plusieurs cas d'intoxication successifs durant une même saison. Il est très probable que cette période corresponde essentiellement au premier trimestre de l'année (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018), bien que la question n'ait pas été posée et dans la mesure où la plupart des cas décrits dans nos études se produisaient au cours de l'hiver.

c) Animal à risque

Si les résultats ne montrent pas de récurrence de l'intoxication chez un même animal, cette donnée peut être très biaisée. Un vétérinaire déjà confronté à cette intoxication sur un animal aura moins de raisons d'appeler un centre antipoison pour un nouveau cas. Cependant au vu de la potentielle gravité et du caractère impressionnant des symptômes neuro-musculaires d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes, il est peu probable que les propriétaires d'un animal ayant été victime de cette intoxication ne soient pas, par la suite, beaucoup plus attentifs au niveau de la prévention du risque de consommation d'une potentielle source de ce toxique.

2. Fréquence de l'intoxication

L'intoxication aux mycotoxines trémorigènes serait considérée comme rare pour les praticiens Français. Néanmoins une fois de plus un fort biais de sélection des appelants influe probablement sur ces résultats. En effet pour un peu plus de la moitié des vétérinaires rappelés il s'agissait de leur première confrontation à cette intoxication, c'est d'ailleurs la raison qui les a souvent poussés à contacter le CNITV. Ainsi beaucoup d'entre eux ont signalé qu'il était complexe de répondre à cette question. Il est donc possible que la fréquence de cette intoxication ait été sous-évaluée dans notre

étude, en raison de la forte proportion des appelants confrontés pour la première fois à ce type de cas et l'ayant de ce fait sûrement signalé moins fréquemment que ne l'auraient signalé des praticiens y ayant déjà été confrontés.

Néanmoins comme évoqué, l'analyse de la totalité des appels reçus par le CNITV en 2017 (Première partie II) C) 2)2.) a montré que ce toxique n'était à l'origine que d'un très faible nombre des appels reçus par ce centre antipoison, en comparaison du nombre total d'appels reçus pour des intoxications canines. Ainsi bien que probablement trop peu souvent suspectées, les mycotoxines trémorigènes semblent tout de même responsables d'un nombre beaucoup plus restreint d'intoxications de chiens en comparaison avec d'autres toxiques tels que le chocolat, l'oignon et mêmes d'autres convulsivants comme le métaldéhyde.

Il est plus surprenant de constater que peu de vétérinaires ont considéré cette intoxication comme saisonnière, alors que la saisonnalité est très marquée dans nos études rétrospectives ou dans les données de la littérature (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Ceci est peut-être lié à la formulation de la question posée dans le questionnaire prospectif, où la fréquence de l'intoxication a dû être estimée simultanément à sa saisonnalité. Ainsi il n'a pas été demandé spécifiquement aux vétérinaires si oui ou non cette intoxication était plus fréquente durant une saison de l'année, si la question avait été posée sous cette forme les résultats auraient possiblement été différents.

6) Connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leurs effets toxiques par les vétérinaires

Dans cette sous partie, contrairement aux autres données obtenues à partir des réponses des vétérinaires au questionnaire téléphonique prospectif, les résultats des réponses des praticiens portant sur l'évaluation de la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire ne pourront pas être comparés à ceux de la bibliographie, aucune publication n'y ayant traité de ce point.

1. Connaissance des mycotoxines trémorigènes

Près de la moitié des vétérinaires interrogés, ne connaissaient pas le terme « mycotoxines trémorigènes ». Ces résultats ne sont pas cohérents avec ceux de l'étude rétrospective de ces mêmes appels signalant que plus de 90 % des appelants étaient eux-mêmes à l'origine de la suspicion des mycotoxines. Cela s'explique par le fait que plus de 90 % des vétérinaires ayant contacté le CNITV avaient en effet suspecté soit directement ces toxines fongiques si elles étaient connues, soit un substrat alimentaire spécifique pouvant être à l'origine de l'intoxication de l'animal (noix ou aliments moisissés, compost, contenu de poubelles). Dans ces 2 cas de figure les permanents du CNITV ont donc signalé l'appelant comme à l'origine de la suspicion des mycotoxines trémorigènes.

2. Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes

a) Connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine

Si une majorité des vétérinaires a signalé connaître l'existence de mycotoxines trémorigènes toxiques pour le chien, ils ignoraient que ces toxines pouvaient affecter d'autres espèces. Cela est probablement lié au fait que d'autres familles de mycotoxines (aflatoxines, ochratoxines, fumosines...) sont bien plus souvent responsables de mycotoxicoses chez les espèces de rente et qu'aucun cas d'atteinte féline lié à ce toxique n'a été rapporté dans la littérature à ce jour.

Les vétérinaires ont généralement suspecté une origine toxique (alimentaire) sans forcément connaître l'existence des mycotoxines trémorigènes. Le rôle des centres antipoison dans ce genre d'appel est alors fondamental, en plus de signaler quel est le traitement à administrer à l'animal il est alors tout aussi important d'informer le vétérinaire au sujet de ce toxique, afin que celui-ci puisse suspecter cette source lors de sa prochaine confrontation avec des animaux présentant des signes cliniques évocateurs de cette intoxication.

Ces résultats permettent donc pour la première fois d'estimer et de chiffrer la connaissance de cette intoxication au sein des vétérinaires Français. D'après nos données plus de 4 vétérinaires praticiens sur 10 ne connaissaient donc pas l'existence des mycotoxines trémorigènes.

Nos résultats démontrent que de nombreux praticiens vétérinaires (25 dans notre étude) exerçant leur activité en France ne connaissent pas les mycotoxines trémorigènes et leur toxicité pour l'espèce canine. Ces données confirment donc les observations non chiffrées de Adamczyk et Lheureux dans leurs études rétrospectives, selon lesquelles la méconnaissance de ce toxique est fréquente au sein de la profession vétérinaire en France (Adamczyk et al., 2016; Lheureux et al., 2018). Cette ignorance de l'existence d'intoxications canines liées à une exposition orale aux mycotoxines trémorigènes entraîne probablement un sous diagnostic. En effet comme de nombreux appelants l'ont signalé il est fortement possible que par le passé, n'ayant pas connaissance de ces mycotoxines, celles-ci n'aient pas été incluses dans leur diagnostic différentiel lors de troubles neuro-musculaires d'origine inconnue chez un chien. Et du fait qu'il s'agisse donc probablement d'une intoxication sous diagnostiquée, sa fréquence d'occurrence réelle en France n'est peut-être pas aussi rare que ne laissent l'entendre les données d'estimation de sa fréquence par les praticiens questionnés dans notre étude.

Les mycotoxines trémorigènes semblent donc encore méconnues par une part non négligeable des vétérinaires praticiens Français. Cette méconnaissance est sans doute à l'origine d'un sous diagnostic des intoxications canines engendrées par ce toxique, ce qui influe sans doute fortement sur la fréquence des cas rapportés. Le rôle de la formation initiale en toxicologie des vétérinaires, et celui des centres antipoison dans la diffusion des connaissances au sujet de ce toxique paraît donc très important car une grande partie des appelants suspectant une intoxication suite à la consommation d'une source de ces métabolites n'avaient pas conscience du toxique réellement à l'origine des symptômes de l'animal.

b) Connaissance de la toxicité des noix moisies

La connaissance de la toxicité des noix moisies pour l'espèce canine au sein de la profession vétérinaire est légèrement plus importante que celle des mycotoxines trémorigènes. Nos résultats témoignent ainsi que près de 10 % des praticiens interrogés connaissaient la toxicité de ce fruit moisi, très fréquent sur quasiment l'intégralité du territoire métropolitain Français, mais ne savaient pas quelle était la substance toxique au sein de celui-ci. Ainsi de même que l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, il est très probable que les intoxications dues à une ingestion de noix moisies par des chiens soient également sous diagnostiquées en France de nos jours.

3. Évaluation des connaissances acquises sur les mycotoxines trémorigènes lors des études en école vétérinaire

L'évaluation de l'apprentissage au sujet des mycotoxines trémorigènes dispensé en école vétérinaire a été évaluée par les praticiens rappelés dans cette étude. Une très importante majorité d'entre eux ont signalé ne pas avoir été assez bien informés à son sujet et formés à la gestion de ces cas d'intoxication. Plusieurs raisons permettent d'expliquer ce résultat.

De prime abord le biais de sélection des vétérinaires inclus dans l'étude pour répondre à cette question influe sûrement très fortement dans cette valeur statistique, ainsi comme plusieurs fois évoqué la forte proportion de praticiens n'ayant pas connaissance de ce toxique ont très probablement justifié leur apprentissage comme insuffisant. La population interrogée n'est pas représentative de celle de l'ensemble des vétérinaires Français, puisqu'elle n'a pas été sélectionnée de façon aléatoire. Cependant un grand nombre de praticiens ayant conscience de l'existence de ce toxique ont aussi signalé ce défaut d'apprentissage au cours de leurs études.

Loin de dénigrer la qualité de la formation en toxicologie dispensée dans les écoles vétérinaires, les praticiens interrogés ont souvent justifié leur réponse. Certains ont signalé que comme de nombreux toxiques les mycotoxines trémorigènes avaient dû être abordées durant les cours de toxicologie, mais insuffisamment pour permettre une gestion optimale d'un cas d'intoxication sans assistance pratique et théorique. D'autres ont mentionné que des informations au sujet de ce toxique devaient figurer dans leurs enseignements mais qu'ils n'en avaient plus le souvenir après plusieurs années sans évocation du sujet. Enfin quelques-uns ont même reconnu ne peut être pas avoir suivi ou lu les cours évoquant cette intoxication au cours de leurs études.

La principale raison expliquant probablement l'absence d'une formation suffisante au sujet l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes en école vétérinaire est liée à la spécificité de ce toxique. En effet devant le nombre potentiel de substances pouvant être néfastes pour diverses espèces d'animaux suite à leur exposition à cette dernière, il est totalement impossible de se pencher longuement sur la gestion de tous les types d'intoxication au cours du temps imparti à la formation toxicologique des vétérinaires durant leurs études. Le domaine de la toxicologie est de toute manière bien trop vaste et spécifique pour être connu en détail dans son intégralité par un être humain. Ceci explique d'ailleurs en grande partie la création en médecine vétérinaire et humaine de structures spécialisées comme les centres antipoison, afin de recenser toutes les informations existantes en toxicologie dans des bases de données consultables rapidement. Ceci dans le but d'assister les praticiens lors de la gestion de cas d'intoxications rares ou spécifiques.

De ce fait l'évocation de ce toxique au sein de la formation vétérinaire et la maîtrise de la mise en place d'un traitement symptomatique et décontaminant chez des chiens intoxiqués sont généralement suffisantes pour une bonne gestion de ces cas d'intoxication. Ainsi le plus important pour un praticien vétérinaire est en réalité la suspicion de ce toxique. Par la suite, de nombreux outils de soutien théoriques et pratiques (guides de toxicologie, centre antipoison, sites internet spécialisés en toxicologie animale...) sont de nos jours à disposition des vétérinaires pour leur permettre d'administrer un traitement adapté aux animaux victimes de troubles. Cependant pour que les mycotoxines trémorigènes puissent être intégrées dans le diagnostic différentiel des professionnels de la santé animale, il est nécessaire que ces derniers aient connaissance de ce toxique.

Une autre raison de l'absence de connaissance de ce toxique par les vétérinaires est liée à la découverte relativement récente des mycotoxines trémorigènes. Le premier cas démontré d'intoxication canine datant en effet de 1979 (Richard and Arp, 1979), et la plupart des publications à ce sujet étant assez récentes, de nombreux praticiens ayant achevé leur cursus scolaire depuis plusieurs décennies n'ont donc pas pu apprendre l'existence de ce toxique durant leurs études.

De plus le premier cas démontré d'intoxication au pénitèrme A date de 1979 (Richard and Arp, 1979) et l'intérêt porté aux mycotoxines trémorigènes dans le cadre des animaux domestiques n'a réellement débuté qu'au début des années 80. Les enseignements de toxicologie datant d'avant le milieu des années 80 n'ont donc pas dû faire mention de ce toxique. Ceci peut expliquer que les plus anciens praticiens ayant été formés antérieurement à cette date n'aient jamais eu connaissance de ce toxique.

Ainsi il semblerait que de par sa spécificité et sa rareté, l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ne soit comme de nombreux autres empoisonnements qu'abordée succinctement dans le corpus d'enseignement dispensé aux vétérinaires durant leurs études. Bien que de connaître le traitement adapté à la gestion de ces cas d'intoxication soit un avantage pour les praticiens, il est surtout fondamental d'avoir conscience de l'existence de ce toxique et de ses potentielles sources dans l'environnement des chiens. En effet sa simple suspicion par un vétérinaire est, de nos jours, souvent suffisante pour permettre une prise en charge optimale de l'animal, car ceux-ci ont à disposition des moyens d'apport théoriques et pratiques au sujet de toxiques. La capacité des vétérinaires à diagnostiquer une intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien est donc fondamentale, néanmoins celle-ci reste à ce jour limitée par l'absence de connaissance de ce toxique, encore répandue au sein de la profession vétérinaire en France.

4. Origine de la connaissance des mycotoxines trémorigènes et de leur toxicité

Le questionnaire portant sur l'origine de la connaissance de la toxicité des mycotoxines trémorigènes pour l'espèce canine, chez les praticiens en ayant conscience a révélé que 4 sources d'informations étaient plus fréquemment citées que les autres, à savoir :

-Un collègue vétérinaire : dans la majorité de ces cas un des vétérinaires exerçant dans la même structure que l'appelant, avait déjà par le passé été confronté à cette intoxication et connaissait donc l'existence et la toxicité des mycotoxines trémorigènes.

-Centre antipoison : ces appels concernaient en général des vétérinaires ayant déjà été confrontés à l'intoxication par le passé et ayant alors contacté un centre antipoison qui leur avait alors appris l'existence et la toxicité des mycotoxines trémorigènes.

-École vétérinaire : ces cas correspondaient aux praticiens se souvenant avoir appris la toxicité de ces métabolites fongiques lors de leurs études.

-Confrontation précédente : ces appels concernaient des vétérinaires ayant un jour appris la toxicité des mycotoxines trémorigènes suite à une confrontation à un chien ayant consommé un substrat contenant probablement ces métabolites toxiques. Ces derniers ne se souvenaient cependant pas exactement de la source d'information consultée à ce moment.

Les autres sources d'informations à savoir les sites internet dédiés à la toxicologie, les guides de toxicologies sous format papier, les posters, brochures et formations sur les toxiques ont été moins fréquemment citées.

Ces résultats démontrent que l'apprentissage de la toxicité des mycotoxines trémorigènes par les vétérinaires Français se fait majoritairement lors de l'exercice de leur activité sur le terrain suite à une confrontation à un tel cas d'intoxication. Lors de celui-ci n'ayant pas conscience de l'existence de ce toxique les praticiens demandent alors souvent une aide diagnostique à un collègue travaillant dans la même structure ou appellent un centre antipoison vétérinaire. Si un autre vétérinaire de la clinique a d'ores et déjà été confronté à cette intoxication, qu'il est possible de qualifier d'impressionnante et de marquante en raison de la potentielle gravité des troubles neuro-musculaires pouvant apparaître, il est fort probable que celui-ci s'en souvienne et apprenne alors à son collègue l'existence et la toxicité de ces métabolites fongiques. Lors du contact d'un centre antipoison en fonction de la description du cas par le vétérinaire, il est fréquent que le permanent spécialisé en toxicologie décèle la possibilité de responsabilité des toxines fongiques dans les symptômes de l'animal et informe l'appelant à leur sujet.

De plus la part des vétérinaires ayant appris la toxicité des mycotoxines trémorigènes en école vétérinaire apparaît tout de même importante dans nos résultats. Ainsi bien que beaucoup des vétérinaires rappelés aient jugé ne pas avoir assez bien été formés sur la gestion de ce type d'intoxications en école vétérinaire, une partie non négligeable d'entre eux y avaient néanmoins appris l'existence de ce toxique et sa possible responsabilité dans des cas d'intoxication canine.

L'apprentissage de l'existence et de la toxicité des mycotoxines trémorigènes se fait donc plus souvent par un interlocuteur humain (collègue, centre antipoison ...) que par une ressource matérielle (livre, site internet, article...). Ceci est sûrement lié au fait que lors d'une confrontation à ce toxique sans connaissance de son existence il est complexe pour un praticien d'orienter ses recherches. De plus la réponse fournie par un autre vétérinaire ou une personne spécialisée en toxicologie est en général bien plus rapide, ce qui peut avoir son importance dans les contextes d'urgence que peuvent constituer ces cas d'intoxication.

En conclusion l'origine de la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire en France semble en grande majorité due aux centres antipoison et aux écoles vétérinaires. Les vétérinaires acquièrent donc celles-ci en majorité durant leurs études, ou lors d'un appel au CNITV ou au CAPAE-Ouest pour une suspicion d'intoxication canine à un substrat potentiellement source de ces métabolites. Dans un second temps ces mêmes praticiens auront eux-mêmes tendance à transmettre leurs connaissances auprès de leurs collègues dans leur environnement professionnel.

7) Évaluation de l'intérêt d'un diagnostic de certitude analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes

1. Certitude de l'origine des symptômes

En très grande majorité, même en l'absence de réalisation d'un diagnostic de certitude analytique, les vétérinaires contactant le CNITV n'émettent à posteriori pas de doute sur la responsabilité des mycotoxines trémorigènes dans les symptômes apparus chez les chiens suspectés être victimes d'intoxication. Cette certitude serait, de plus, fortement liée à des éléments anamnestiques très en faveur d'une consommation d'un substrat potentiellement source de ces toxines fongiques, ou à sa mise en évidence dans les substances émétiques du chien victime de troubles.

2. Intérêt de l'analyse lors des cas recensés dans l'étude

Pour la majorité des vétérinaires interrogés, la confirmation analytique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes ne présente que peu d'intérêt pour les raisons suivantes :

- La non compatibilité du temps de réalisation de l'analyse avec la résolution clinique rapide de ces cas d'intoxication : il est en effet totalement justifié pour les praticiens de souligner ce point. La durée d'acheminement des échantillons et de la réalisation de l'analyse en laboratoire est au minimum de 3 à 4 semaines, sachant que la majorité des cas cliniques sont résolus comme démontré dans un délai de 2 à 4 jours, le résultat de celle-ci ne peut en aucun cas influencer dans la prise en charge thérapeutique de l'animal intoxiqué. Ceci est également vrai pour l'ensemble des toxiques convulsivants, qui font pourtant l'objet de multiples analyses.

-Une certitude de l'origine de l'intoxication de la part des vétérinaires sans réalisation de l'analyse : dans ce genre de cas l'anamnèse permet généralement d'avoir un diagnostic de quasi-certitude. L'analyse ne paraît donc pas nécessaire.

-Une absence d'antidote pour ce toxique, entraînant la mise en place d'un traitement symptomatique que l'analyse soit positive ou négative : cette question ne se pose en réalité même pas car le délai de réalisation de l'analyse est en général bien plus long que la durée du traitement instauré dans ces cas d'intoxication. On retrouve d'ailleurs cette caractéristique pour toutes les intoxications aux convulsivants.

-Un manque de moyens financiers de la part des propriétaires : les frais engendrés par l'analyse peuvent être élevés et justifier un refus de la part du propriétaire, surtout si l'animal a récupéré.

Toutefois, dans le panel interrogé, des vétérinaires ont évoqué plusieurs circonstances pour lesquelles l'analyse revêt un intérêt certain :

-Un diagnostic de certitude présente toujours un intérêt : ces praticiens ont témoigné que peu importe les modalités de l'intoxication, l'obtention d'un diagnostic de certitude analytique est toujours avantageuse. En effet celle-ci peut surtout permettre d'augmenter fortement la crédibilité du vétérinaire auprès des clients, notamment lorsque ces derniers sont dubitatifs.

-Une grande motivation du propriétaire dans la réalisation de l'analyse : certains propriétaires très inquiets au sujet de leur animal sont désireux de réaliser tout ce qu'il est possible de faire pour trouver

l'origine des troubles de leurs animaux. Ainsi dans ce genre de contextes, la réalisation de ce diagnostic de certitude analytique est très intéressante car le vétérinaire peut disposer d'un examen très sensible et spécifique pour répondre à la demande du client.

-Une exclusion d'autres hypothèses diagnostiques : une détection positive des mycotoxines trémorigènes dans les urines de chiens victimes de tremblements ou de convulsions d'origine indéterminée est indicatrice d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes, car en conditions physiologiques celles-ci en sont totalement dépourvues. À moins d'une consommation simultanée d'un autre convulsivant, ce qui paraît fortement improbable, les autres causes toxiques peuvent être écartées du diagnostic différentiel. Ceci est notamment intéressant dans les contextes de suspicion d'actes d'empoisonnements volontaires, en effet si des mycotoxines trémorigènes sont détectées dans l'organisme d'un chien victime de trouble nerveux, cela exclut quasiment les actes de malveillance des hypothèses diagnostiques.

-Une possible prévention du nombre de nouveau cas d'intoxication : la démonstration de l'implication des mycotoxines trémorigènes dans l'intoxication d'un chien peut fortement influencer ses propriétaires à limiter l'accès à de potentielles sources de ce toxique afin d'éviter une nouvelle intoxication de ce dernier ou des autres chiens du foyer.

-Un moyen de recours en absence d'hypothèse diagnostique : bien que mentionnée par un appelant cette raison ne semble pas à elle seule indiquer la réalisation du diagnostic de certitude analytique d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. En effet celui-ci ne permet de tester la présence que d'un seul toxique convulsivant parmi la longue liste de ceux pouvant induire des troubles neuro-musculaires chez les chiens. Mieux vaut alors réaliser des analyses toxicologiques visant à détecter la présence de plusieurs convulsivants différents, ou essayer de reconstituer le passé de l'animal afin d'y recenser une possible exposition à une substance toxique spécifique.

Ainsi bien que non recommandée dans 100 % des cas, la réalisation d'un diagnostic de certitude analytique lors de suspicions d'intoxications de chiens aux mycotoxines trémorigènes peut s'avérer, selon le contexte, un examen complémentaire très intéressant à proposer à ses clients pour un praticien.

3. Volonté d'analyse des propriétaires

Parmi les vétérinaires rappelés certains ont émis des critiques vis-à-vis de la réalisation pratique et de la forme de l'analyse proposée par Toxlab. En effet quelques uns d'entre eux ont signalé les difficultés pratiques de la réalisation d'un prélèvement urinaire, de son envoi et de la baisse d'intérêt de l'analyse pour les propriétaires en raison des plusieurs semaines de délai nécessaires à l'obtention des résultats. Ces deniers ont alors mentionné que la disponibilité d'un test rapide à réaliser au chevet de l'animal serait beaucoup plus simple d'utilisation et générerait un nombre d'analyses beaucoup plus important. Parallèlement certains cliniciens ont émis des réserves quand à la réalisation de cette analyse ne permettant de certifier que de la présence ou l'absence dans l'organisme d'un seul toxique convulsivant. En raison du nombre de toxiques pouvant induire des troubles neuro-musculaires similaires chez l'espèce canine, ces praticiens ont suggéré que la proposition de réalisation d'une analyse groupée de tous les convulsivants fréquemment impliqués dans des cas d'intoxications canines serait beaucoup plus intéressante d'un point de vue diagnostic et financier.

Nos résultats semblent indiquer l'existence potentielle d'une très forte demande de réalisation d'un diagnostic de certitude de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes, auprès des vétérinaires Français. Celle-ci serait surtout très forte de la part des propriétaires lors des cas d'intoxication graves ou lors de suspicions d'actes de malveillance. Néanmoins le prix de l'analyse et le délai nécessaire à l'obtention des résultats pourraient dissuader certains d'entre eux. Enfin le dosage simultané de plusieurs convulsivants lors de cette même analyse, ou la mise au point d'un test rapide semblerait pouvoir augmenter fortement l'intérêt de cette dernière pour les propriétaires comme pour les vétérinaires, ce qui accroîtrait sûrement sa demande. Il serait cependant très complexe de répondre à ces 2 requêtes pour un laboratoire de toxicologie, en raison des différentes techniques analytiques de dosages nécessaires pour la détection des très nombreuses substances neurotoxiques chez le chien pour la première, et de la très grande complexité de mise au point d'un test rapide de détection d'une substance toxique pour la seconde. De tels tests rapides n'existant même pas pour les toxiques les plus fréquemment impliqués dans les intoxications canines, il est très peu probable qu'un tel examen rapide soit développé et commercialisé pour les mycotoxies trémorigènes.

C) Étude analytique

1) Limites de l'étude

La principale limite de cette étude est le très faible nombre d'échantillons ayant pu être analysés, bien que le but de ce travail était avant tout de présenter la méthode de dosage quantitative des mycotoxines trémorigènes par LC-MS/MS sur urine, maintenant mise à disposition des vétérinaires Français par Toxlab, lors de suspicions d'intoxications canines. La difficulté d'obtention d'échantillons à analyser dans cette étude s'explique par plusieurs raisons.

Premièrement, comme déjà évoqué, l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes reste un trouble peu fréquent et rarement rapporté par les praticiens vétérinaires Français au CNITV. Les suspicions étant recueillies sur tout le territoire national, cela nécessitait un transport rapide (payant) des échantillons vers le laboratoire qui n'était pas pris en charge et a pu freiner certains envois. De plus, les appels de nuit ou de week-end ne permettaient pas facilement la collecte, la conservation et l'envoi ultérieur d'échantillons.

Enfin, le nombre important d'acteurs et d'intermédiaires dans cette étude entre le laboratoire et les praticiens contactant le CNITV (à savoir : ASV, vétérinaires, permanents du CNITV, auteur, secrétaires du laboratoire de toxicologie, laborantins, ingénieurs du laboratoire de toxicologie) entraînait quelques complications de transmission d'informations. Ainsi l'oubli de la mention de la possibilité de réalisation gratuite du dosage aux appelants du CNITV lors de l'appel initial, entraînait souvent son absence de réalisation. Cet oubli fréquent lors des gardes nocturnes du CNITV est probablement lié à la nécessité de réponse rapide du personnel aux appelants devant souvent faire face à des situations d'urgence, ou à l'occurrence de plusieurs communications téléphoniques simultanées.

Enfin l'unique analyse réalisée au SIAMU s'explique probablement par la faible durée de recueil de ces cas de Janvier à Avril 2022 et par le faible nombre d'intoxications canines de ce type traitées chaque année dans ce service d'urgence.

Ainsi beaucoup de contraintes géographiques, temporelles et logistiques étaient présentes pour l'obtention d'échantillons urinaires de chiens suspectés d'intoxication aux mycotoxines trémorigènes dans cette étude. Celles-ci étaient essentiellement liées à la forme même de l'étude et au recueil des cas dans un centre antipoison à action nationale et présentant un personnel important. Néanmoins 3

échantillons urinaires ont tout de même pu être analysés à Toxlab au cours de cette étude, ce qui a permis de tester la méthode de dosage quantitative du pénitrème A et de la roquefortine C nouvellement mise en place par ce laboratoire.

2) Résultats de l'analyse des échantillons urinaires par LC-MS/MS

Parmi les 3 échantillons urinaires prélevés sur des chiens fortement suspectés d'être victimes d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes, aucun ne s'est révélé contenir du pénitrème A ou de la roquefortine C en quantité suffisante pour permettre sa détection par la méthode analytique de LC-MS/MS utilisée à Toxlab, malgré ses très hautes sensibilités et spécificités.

Ces résultats suggèrent que soit les symptômes présentés par ces 3 animaux étaient liés à une autre cause que la consommation de mycotoxines trémorigènes, soit que celles-ci n'étaient pas encore ou plus en quantité suffisante dans les urines pour être détectées. Cette dernière hypothèse pourrait s'expliquer par la réalisation d'un prélèvement urinaire trop précoce ou tardif chez les chiens intoxiqués, ou bien encore par la dégradation des métabolites durant leur conservation réfrigérée ou congelée. Enfin une défaillance de la méthode d'analyse par LC-MS/MS utilisée à Toxlab ne peut également être exclue des causes possibles d'absence de détection de pénitrème A et de roquefortine C dans les échantillons urinaires canins analysés.

3) Origine possible de l'absence de détection des mycotoxine

1. Autre étiologie

Le chien dont était issu le premier prélèvement urinaire avait été vu en train de consommer du compost par ses propriétaires, de plus des traces de ce toxique ont été retrouvées dans les vomissements de ce dernier. Ces éléments couplés à la présence de tremblements généralisés et d'une position d'opisthotonos sont très fortement indicateurs d'une intoxication aux mycotoxines trémorigènes. De même la chienne sur laquelle le troisième prélèvement urinaire a été réalisé était fortement suspectée d'avoir consommé du compost, et des morceaux de noix ont été retrouvés dans ses vomissements. Additionnés à ses tremblements généralisés cette présentation clinique est également en faveur de cette étiologie. Quant au troisième animal dont les urines ont fait l'objet d'une analyse celui-ci avait avec certitude consommé un aliment moisi de nature non définie et présentait également des tremblements généralisés ce qui coïncide aussi avec une description d'une probable intoxication à des toxines fongiques.

Les 3 cas soumis à analyse sont donc tous fortement suspects d'une exposition certaine aux mycotoxines trémorigènes.

2. Moment de réalisation du prélèvement urinaire

Les prélèvements urinaires numéro 1, 2 et 3 ont été réalisés respectivement de 48 à 72 h, moins de 24 h et moins de 12 h après la consommation supposée des mycotoxines. Comme mentionné dans la partie décrivant la pharmacocinétique du pénitrème A et de la roquefortine C, l'excrétion urinaire de

roquefortine C a déjà été démontrée chez le chien (Tiwary et al., 2009) au contraire de celle du pénitrème A, bien que celle-ci soit fortement suspectée. Néanmoins les paramètres pharmacocinétiques de ces 2 métabolites sont encore très peu connus dans l'espèce canine, dont notamment leurs paramètres d'excrétion urinaires. En se basant sur la seule donnée indicatrice à ce sujet disponible à ce jour, à savoir que 24 h après son administration orale, 3,6 à 5,7 % de la roquefortine C est excrétée par voie urinaire (et 45 à 76 % dans les selles) chez des rats intoxiqués à cette mycotoxine (Laws and Mantle, 1987), les prélèvements urinaires devraient être réalisés sur les chiens intoxiqués moins de 24 h après la consommation suspectée des mycotoxines trémorigènes. Le délai minimal à respecter avant la réalisation d'un prélèvement urinaire est lui totalement inconnu, néanmoins en raison de la résolution de certains cas d'intoxication en une douzaine d'heures seulement il est possible de supposer que l'élimination de ces toxines débute très rapidement. Un prélèvement très précoce serait à privilégier.

Ainsi la période optimale de réalisation d'un prélèvement urinaire serait, dans les 24 h après la consommation supposée de mycotoxines trémorigènes. Les prélèvements 2 et 3 auraient donc été effectués dans la bonne fenêtre de réalisation des prélèvements. Au contraire le premier prélèvement a été réalisé trop tardivement ce qui pourrait expliquer l'absence de détection des mycotoxines dans celui-ci.

De plus les chiens à l'origine des prélèvements numéro 1 et 3 avaient été traités avec des ELI, ayant sans doute augmenté la vitesse d'élimination du toxique de l'organisme. Ainsi l'absence de détection de pénitrème A et de roquefortine C dans ces prélèvements urinaires peut également être expliquée par un prélèvement réalisé trop tardivement, en raison d'une élimination très rapide des toxiques.

Enfin il est possible que, malgré la sensibilité de la technique, la quantité de mycotoxine éliminée dans l'urine soit trop faible pour être détectée. Un élargissement de cette technique vers d'autres échantillons biologiques pourrait être envisagé.

3. Stabilité des mycotoxines trémorigènes dans l'urine

Comme déjà mentionné aucune donnée sur la stabilité des mycotoxines trémorigènes dans un échantillon urinaire n'est à ce jour disponible dans la littérature. Ainsi mis à part l'étude de Moldes-Anaya et ses collaborateurs ayant démontré que le pénitrème A pouvait être détecté dans un tissu ayant subi une congélation (Moldes-Anaya et al., 2012), aucune information sur la durée de conservation maximale des échantillons urinaires prélevés sur des chiens suspects d'être victimes d'intoxications aux mycotoxines trémorigènes n'est disponible.

De ce fait bien que la durée de réfrigération des échantillons urinaires ait pu varier de 2,5 à 6 jours et celle de leur congélation de 2 à 8 jours, et que ceux-ci ait parfois subi un long transport, aucune conclusion ne pourra être tirée de ces données. Une dégradation des métabolites pendant ces phases de conservation ne peut être exclue.

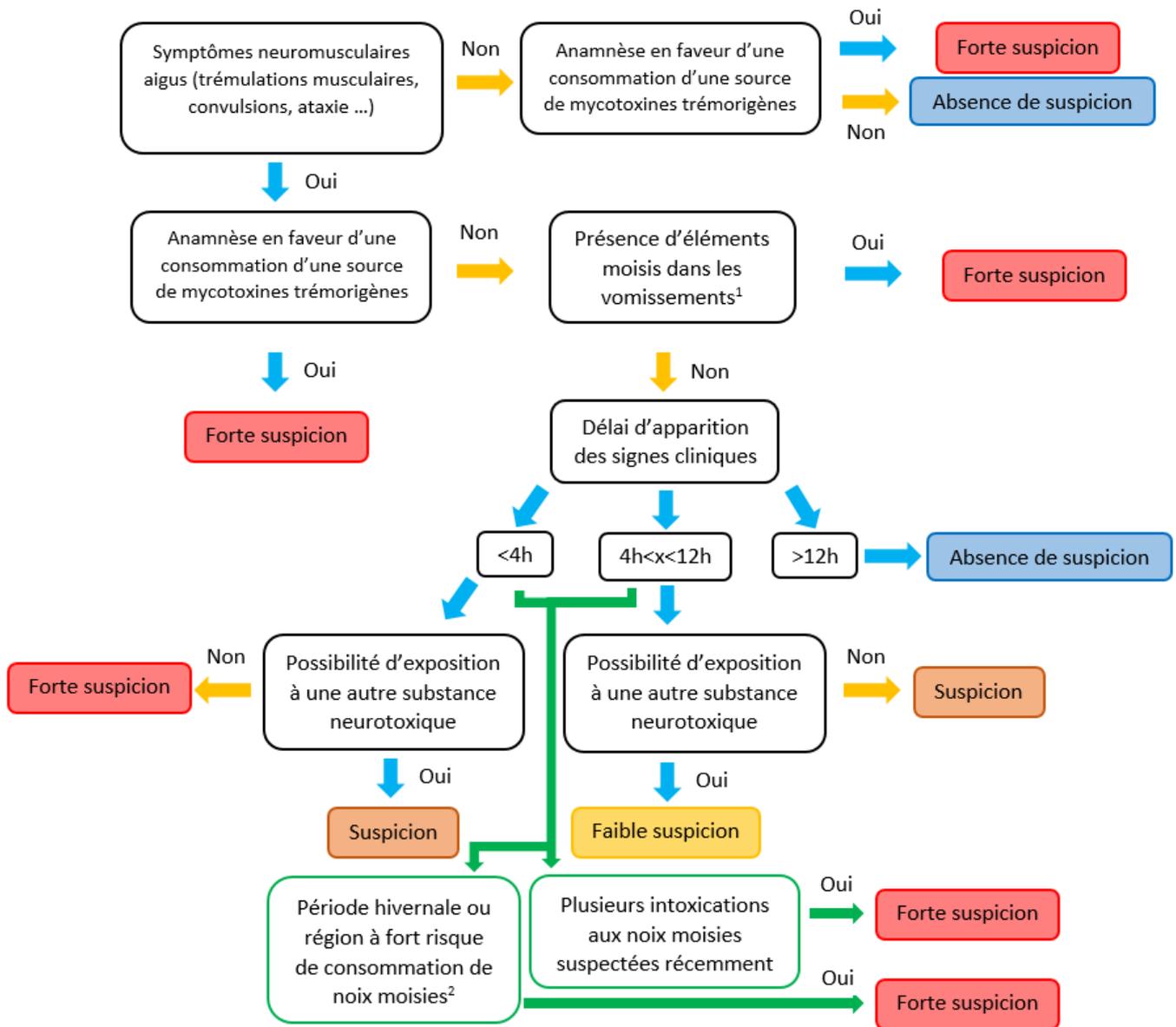
4. Défaillance de la méthode analytique

La méthode analytique de dosage des mycotoxines trémorigènes par LC-MS/MS employée à Toxlab a d'ores et déjà prouvé sa validité, grâce à une détection de pénitrème A et de la roquefortine C sur des

échantillons urinaires artificiellement enrichis avec ces mycotoxines. De plus comme déjà mentionné sa sensibilité et sa spécificité sont très importantes. Enfin à Toxlab, un contrôle qualité est systématiquement pratiqué lors de la réalisation du dosage de pénitrame A et de roquefortine C, grâce à la réalisation d'un échantillon blanc et d'un blanc supplémenté dont les concentrations étaient valides lors de toutes analyses effectuées au cours de cette étude. Ainsi l'absence de détection de mycotoxines trémorigènes dans les 3 échantillons urinaires testés au cours de cette étude, est très peu probablement liée au protocole analytique utilisé au laboratoire de toxicologie.

En conclusion l'absence de détection de pénitrame A et de roquefortine C dans les échantillons urinaires analysés pourrait être expliquée par un prélèvement trop tardif pour les prélèvements 1 et 3, ainsi que par une altération de ces toxines durant leur conservation. Beaucoup moins probablement celle-ci pourrait aussi être liée à un défaut de la méthode analytique de dosage des mycotoxines dans l'urine utilisée dans cette étude, ou à la responsabilité d'une autre cause dans les symptômes présentés par les animaux suspectés d'intoxication que celle de l'effet de métabolites fongiques neurotoxiques.

Schéma Bilan : Méthode diagnostique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien



¹ : en l'absence de vomissements spontanés, si l'animal est en état de déglutir, l'induction de vomissements peut présenter un fort intérêt diagnostic.

² : départements situés dans le Sud-Ouest de la France ou à l'Ouest des Alpes.

 Démarche diagnostique spécifique à l'intoxication canine aux noix moisis.

Figure 82 : Méthode diagnostique de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien (Source : MERKLING Axel)

CONCLUSION

Malgré des connaissances croissantes mais encore parcellaires au sujet des mycotoxines trémorigènes et de leurs moisissures sécrétrices, les caractéristiques des intoxications canines engendrées par la consommation de ces métabolites sont de nos jours en grande partie connues. L'exposition des chiens à ce toxique est en effet très majoritairement liée à l'ingestion de noix moisies. Cependant d'autres substrats tels que du compost, le contenu de poubelles et de nombreux aliments altérés peuvent également être à l'origine de cette intoxication. Notre étude bibliographique a démontré que beaucoup d'inconnues au sujet du pénitène A et de la roquefortine C persistaient encore de nos jours, dont notamment leurs mécanismes d'action cellulaire, leurs paramètres pharmacocinétiques dans l'espèce canine et leurs temps de conservation dans les échantillons biologiques. De plus, le caractère trémorigène de la roquefortine C est actuellement fortement remis en question.

Les travaux rétrospectifs menés grâce aux données du CNITV ont permis de confirmer la forte saisonnalité hivernale de l'intoxication canine aux noix moisies, très majoritairement causée par la consommation de ces fruits en décomposition au sol, et la présence de troubles neuro-musculaires chez près de 100 % des chiens atteints. Un risque accru d'intoxication des jeunes animaux et de ceux résidant dans le Sud-Ouest de la France ou à l'Ouest des Alpes a été mis en évidence. Un délai d'apparition des symptômes de 30 minutes à 4 h et une augmentation globale du nombre d'appels reçus par les centres antipoison suite à la consommation de ce toxique par un chien malgré une fluctuation annuelle importante, sont également ressortis de nos résultats.

Notre étude prospective a permis de déterminer des informations très utiles à l'établissement de pronostics par les vétérinaires praticiens. En effet un taux de létalité de 5 à 10 %, une très fréquente rétrocession des troubles neuro-musculaires graves en moins de 48 h avec un traitement anti-convulsivant et éliminatoire adéquat, une absence d'engagement du pronostic vital de l'animal passé ce délai, ainsi qu'une rémission totale des signes cliniques en moins de 4 jours associée à une absence de séquelles dans la grande majorité des cas, ont été observés au sujet de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien. Le suivi de l'évolution des animaux a permis de montrer une très fréquente évolution favorable de ces derniers, suite à l'administration des traitements de décontamination et symptomatiques recommandés par les centres antipoison. En particulier l'intérêt d'utilisation du diazépam en première intention, et le très bon rapport bénéfice/risque de recours à d'autres familles d'anti-convulsivants en cas d'échec de diminution des tremblements et des convulsions des animaux intoxiqués suite à cette mesure, ont été mis en évidence dans notre étude. Enfin une absence de symptômes 12 h après la consommation suspectée de ces toxines fongiques, semble raisonnablement exclure la possibilité d'occurrence d'une intoxication pour l'animal.

Les suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes par un vétérinaire sont très majoritairement liées au récit de l'anamnèse des propriétaires, les signes cliniques des animaux sont eux en revanche très peu spécifiques et le diagnostic différentiel possible à partir de ces derniers est très vaste. Hormis les confirmations visuelles de consommation d'un substrat potentiellement source de mycotoxines trémorigènes, l'autre élément souvent déterminant dans la suspicion d'exposition à ce toxique s'est révélé être l'analyse du contenu des substances émétiques de l'animal. Sa description ou son observation minutieuses peuvent effectivement, à elles seules, certifier l'ingestion d'un substrat à risque.

L'évaluation de la connaissance de ces métabolites neurotoxiques au sein de la profession vétérinaire en France a révélé qu'une part importante des praticiens en exercice n'avait pas conscience de l'existence de ces mycotoxines et du risque de troubles neurologiques liés à la consommation de noix ou d'aliments moisies pour les chiens. Cette méconnaissance rendant impossible la suspicion de ce toxique par les cliniciens et donc le diagnostic de l'intoxication, celle-ci s'en trouve actuellement, très certainement, sous diagnostiquée en France. Le contact d'un centre antipoison lors de cette intoxication s'avère fréquemment très bénéfique pour l'animal atteint comme pour le vétérinaire. Ainsi en plus des indications sur la nature et les modalités du traitement à administrer au chien, le praticien peut aussi apprendre l'existence des mycotoxines trémorigènes, de leur toxicité et de leurs potentielles sources dans l'environnement. Cette simple connaissance suffit souvent à la suspicion des cas d'intoxication par les vétérinaires, qui peuvent ensuite disposer aisément de nos jours d'une ressource pratique ou théorique décrivant la prise en charge optimale de l'animal.

Malgré l'absence de démonstration par analyse d'un cas d'intoxication recensé dans nos travaux, l'étude analytique menée dans cette thèse a permis de présenter le protocole de la première méthode physique de dosage du pénitrème A et de la roquefortine C dans des échantillons urinaires de chiens, mise en place dans un laboratoire de toxicologie vétérinaire Français. Il s'agit à ce jour du seul diagnostic de certitude de l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes à disposition des vétérinaires canins en France. De plus notre étude prospective a montré qu'une potentielle demande de réalisation de cette analyse existait déjà en France. Ainsi lors de suspicions d'actes de malveillance ou de la présence d'une très forte volonté de détermination de l'origine des troubles de leurs animaux de la part des propriétaires, cette analyse en laboratoire pourrait selon les circonstances s'avérer intéressante à proposer pour les vétérinaires. Néanmoins le manque de données au sujet de l'élimination urinaire de ces toxines fongiques, et de leur stabilité dans les urines complexifie encore à ce jour la réalisation et l'interprétation de ce dosage analytique.

Bibliographie

- Adamczyk, É., Roque, F., Pineau, X., Tavernier, L., Queffélec, S., 2016. Intoxication du chien par des noix moisis : études rétrospective d'après les cas reçus au CNITV entre 2008 et 2015. *Toxicol. Anal. Clin.* 28, 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2016.07.002>
- Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale: rapport final / AFSSA, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Maisons-Alfort.
- al-Hilli, A.L., Smith, J.E., 1992. Influence of propionic acid on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in liquid submerged and solid substrate conditions. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. Off. Organ Int. Soc. Environ. Toxicol. Cancer* 11, 57–60.
- Ali, H., Ries, M.I., Nijland, J.G., Lankhorst, P.P., Hankemeier, T., Bovenberg, R.A.L., Vreeken, R.J., Driessen, A.J.M., 2013. A Branched Biosynthetic Pathway Is Involved in Production of Roquefortine and Related Compounds in *Penicillium chrysogenum*. *PLOS ONE* 8, e65328. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065328>
- Arnold, D.L., Scott, P.M., McGuire, P.F., Harwig, J., Nera, E.A., 1978. Acute toxicity studies on roquefortine and pr toxin, metabolites of *Penicillium roqueforti*, in the mouse. *Food Cosmet. Toxicol.* 16, 369–371. [https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(78\)80009-1](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(78)80009-1)
- Arp, L.H., Richard, J.L., 1981. Experimental intoxication of guinea pigs with multiple doses of the mycotoxin, penitrem A. *Mycopathologia* 73, 109–113. <https://doi.org/10.1007/BF00562600>
- Arp, L.H., Richard, J.L., 1979. Intoxication of dogs with the mycotoxin penitrem A. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175, 565–566.
- Asano, S., Bratz, I.N., Berwick, Z.C., Fancher, I.S., Tune, J.D., Dick, G.M., 2012. Penitrem A as a Tool for Understanding the Role of Large Conductance Ca²⁺/Voltage-Sensitive K⁺ Channels in Vascular Function. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 342, 453–460. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.191072>
- Barbiturates drug profile [en ligne], Barbiturates Drug Profile Wwemcdda.europa.eu, URL https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/barbiturates_fr (consulté le 02/04/22)
- Barker, A.K., Stahl, C., Ensley, S.M., Jeffery, N.D., 2013. Tremorgenic Mycotoxicosis in Dogs 6.
- Berntsen, H.F., Wigestrang, M.B., Bogen, I.L., Fonnum, F., Walaas, S.I., Moldes-Anaya, A., 2013. Mechanisms of penitrem-induced cerebellar granule neuron death in vitro: Possible involvement of GABAA receptors and oxidative processes. *NeuroToxicology* 35, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2013.01.004>
- Berny, P., Queffélec, S., 2014. Évacuation digestive, in: *Guide Pratique de Toxicologie Vétérinaire*. Paris : MED'COM, pp. 44–46.
- Boysen, S.R., Rozanski, E.A., Chan, D.L., Grobe, T.L., Fallon, M.J., Rush, J.E., 2002. Tremorgenic mycotoxicosis in four dogs from a single household. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221, 1441–1444. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.1441>
- Braselton, W.E., Johnson, M., 2003. Thin Layer Chromatography Convulsant Screen Extended by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15, 42–45. <https://doi.org/10.1177/104063870301500109>

- Breton, P., Bizot, J.-C., Buee, J., De La Manche, I., 1998. Brain neurotoxicity of Penitrem A: electrophysiological, behavioral and histopathological study. *Toxicon* 36, 645–655. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(97\)00084-6](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(97)00084-6)
- Byrne, K.M., Smith, S.K., Ondeyka, J.G., 2002. Biosynthesis of Nodulisporic Acid A: Precursor Studies. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 7055–7060. <https://doi.org/10.1021/ja017183p>
- Cairns-Fuller, V., Aldred, D., Magan, N., 2005. Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *J. Appl. Microbiol.* 99, 1215–1221. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02695.x>
- Camardo Leggieri, M., Decontardi, S., Bertuzzi, T., Pietri, A., Battilani, P., 2017. Modeling Growth and Toxin Production of Toxicogenic Fungi Signaled in Cheese under Different Temperature and Water Activity Regimes. *Toxins* 9, 4. <https://doi.org/10.3390/toxins9010004>
- Carlotti, A., 2014. Identification des moisissures. *La Vague* 42, 10–12. https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2014/06/article_scientifique_vague42_0pdf_articles_la_vague_42_bd-12-14.pdf (consulté le 11/04/22)
- CAS # 12627-35-9, Penitrem A: more information [en ligne], URL <https://www.chemblink.com/moreProducts/more12627-35-9.htm> (consulté le 15/08/22)
- Caudullo, G., Welk, E., San-Miguel-Ayanz, J., 2017. Chronological maps for the main European woody species. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.11891514.v1>
- Cavanagh, J.B., Holton, J.L., Nolan, C.C., Ray, D.E., Naik, J.T., Mantle, P.G., 1998. The Effects of the Tremorgenic Mycotoxin Penitrem A on the Rat Cerebellum. *Vet. Pathol.* 35, 53–63. <https://doi.org/10.1177/030098589803500105>
- Cawdell-Smith, A., Scrivener, C., Bryden, W., 2010. Staggers in horses grazing paspalum infected with *Claviceps paspali*. *Aust. Vet. J.* 88, 393–5. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2010.00624.x>
- Chain (CONTAM), E.P. on C. in the F., Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J.K., del Mazo, J., Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Hoogenboom, L. (Ron), Leblanc, J.-C., Nebbia, C.S., Nielsen, E., Ntzani, E., Petersen, A., Sand, S., Schwerdtle, T., Vlemingckx, C., Marko, D., Oswald, I.P., Piersma, A., Routledge, M., Schlatter, J., Baert, K., Gergelova, P., Wallace, H., 2020. Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA J.* 18, e06040. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6040>
- Cole, R.J., Dorner, J.W., Cox, R.H., 1983. Two classes of alkaloid mycotoxins produced by *Penicillium crustosum* Thom isolated from contaminated beer | *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [en ligne]. URL <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00117a045> (consulté le 01/09/22).
- Cole, R.J., Dorner, J.W., Lansden, J.A., Cox, R.H., Pape, C., Cunfer, B., Nicholson, S.S., Bedell, D.M., 1977. Paspalum staggers: isolation and identification of tremorgenic metabolites from sclerotia of *Claviceps paspali*. *J. Agric. Food Chem.* 25, 1197–1201. <https://doi.org/10.1021/jf60213a061>
- Coleman, A.E., Merola, V., 2015. Clinical signs associated with ingestion of black walnut tree (*Juglans nigra*) wood, nuts, and hulls in dogs: 93 cases (2001–2012). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 248, 195–200. <https://doi.org/10.2460/javma.248.2.195>
- DeFarias, F.P., Carvalho, M.F., Lee, S.H., Kaczorowski, G.J., Suarez-Kurtz, G., 1996. Effects of the K⁺ channel blockers paspalitrem-C and paxilline on mammalian smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 314, 123–128. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00540-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00540-7)

- Di Menna, M.E., Mantle, P.G., 1978. The role of *Penicillia* in ryegrass staggers. *Res. Vet. Sci.* 24, 347–351. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33046-7](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33046-7)
- Dugas, S., 2017. Syndrome de tremblements épisodiques de la tête chez le bouledogue anglais : prévalence, sémiologie et investigation diagnostique.
- ENS Lyon, 2002. Organisation du cervelet [en ligne]. URL <http://acces.ens-lyon.fr/biotic/gpe/dossiers/mutcer/html/orgcerv.htm> (consulté le 13/02/22).
- Eriksen, G.S., Jäderlund, K.H., Moldes-Anaya, A., Schönheit, J., Bernhoft, A., Jæger, G., Rundberget, T., Skaar, I., 2010. Poisoning of dogs with tremorgenic *Penicillium* toxins. *Med. Mycol.* 48, 188–196. <https://doi.org/10.3109/13693780903225821>
- Eriksen, G.S., Moldes-Anaya, A., Fæste, C.K., 2013. Penitrem A and analogues: Toxicokinetics, toxicodynamics including mechanism of action and clinical significance. *World Mycotoxin J.* 6, 263–272. <https://doi.org/10.3920/WMJ2013.1574>
- Escola, L., Henry, G., 1975. MOISSURES TOXINOGENES DES FOURRAGES ENSILÉS. III. – PRODUCTION DE PATULINE ET D'ACIDE BYSSOCHLAMIQUE PAR BYSSOCHLAMYS NIVEA WESTLING SUR UN MODÈLE D'ENSILAGE RÉALISÉ EN LABORATOIRE. *Ann. Rech. Vét.* 6, 219–226.
- Evans, T.J., Gupta, R.C., 2018. Chapter 74 - Tremorgenic Mycotoxins, in: Gupta, R.C. (Ed.), *Veterinary Toxicology (Third Edition)*. Academic Press, pp. 1033–1041. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00074-X>
- Fangeat, L., 2008. LES MYCOTOXINES CHEZ LES BOVINS [en ligne]. URL <https://viewer.afnor.org/Pdf/Viewer/?token=uMQy6Kd4NaE1> (consulté le 26/02/20).
- Felšöciová, S., Rybárik, Ľ., Tancinová, D., Mašková, Z., Kacaniova, M., 2015. Microfungi and mycotoxins of grapes from Tokaj wine region. *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.* 04, 16–18. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.special1.16-18>
- Ferrigo, D., Raiola, A., Bogianni, S., Bortolini, C., Tapparo, A., Causin, R., 2015. In Vitro Production of Fumonisin by *Fusarium verticillioides* Under Oxidative Stress Induced by H₂O₂. *J. Agric. Food Chem.* 63. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00113>
- Filténborg, O., Frisvad, Thrane, 1996. Moulds in food spoilage. *Int. J. Food Microbiol.* 33, 85–102. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01153-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01153-1)
- Finoli, C., Vecchio, A., Galli, A., Dragoni, I., 2001. Roquefortine C occurrence in blue cheese. *J. Food Prot.* 64, 246–251. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-64.2.246>
- Fischer, G., Müller, T., Ostrowski, R., Dott, W., 1999. Mycotoxins of *Aspergillus fumigatus* in pure culture and in native bioaerosols from compost facilities. *Chemosphere* 38, 1745–1755. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00391-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00391-9)
- Fletcher, L.R., Harvey, I.C., 1981. An Association of a *Lolium* Endophyte with Ryegrass Staggers: New Zealand Veterinary Journal: Vol 29, No 10 [en ligne]. URL <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00480169.1981.34839> (consulté le 01/09/22).
- Fontaine, K., Hymery, N., Lacroix, M.Z., Puel, S., Puel, O., Rigalma, K., Gaydou, V., Coton, E., Mounier, J., 2015. Influence of intraspecific variability and abiotic factors on mycotoxin production in *Penicillium roqueforti*. *Int. J. Food Microbiol.* 215, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.021>
- FranceAgriMer, 2020. Les chiffres-clés de la filière Fruits & Légumes frais et transformés 2018.

- Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Larsen, T.O., Samson, R.A., 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 201–241.
- Gallagher, R.T., Clardy, J., Wilson, B.J., 1980. Aflatrem, a tremorgenic toxin from *Aspergillus flavus*. *Tetrahedron Lett.* 21, 239–242. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)71178-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)71178-6)
- Gallagher, R.T., Hawkes, A.D., Steyn, P.S., Vleggaar, R., 1984. Tremorgenic neurotoxins from perennial ryegrass causing ryegrass staggers disorder of livestock: structure elucidation of lolitrem B. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 614–616. <https://doi.org/10.1039/C39840000614>
- Gallagher, R.T., White, E.P., Mortimer, P.H., 1981. Ryegrass Staggers: Isolation of Potent Neurotoxins Lolitrem a and Lolitrem B From Staggers-Producing Pastures. *N. Z. Vet. J.* 29, 189–190. <https://doi.org/10.1080/00480169.1981.34843>
- García-Estrada, C., Ullán, R.V., Albillos, S.M., Fernández-Bodega, M.Á., Durek, P., von Döhren, H., Martín, J.F., 2011. A Single Cluster of Coregulated Genes Encodes the Biosynthesis of the Mycotoxins Roquefortine C and Meleagrín in *Penicillium chrysogenum*. *Chem. Biol.* 18, 1499–1512. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.08.012>
- Gauthier, A., 2016a. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé 132.
- Gauthier, A., 2016b. Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé 132.
- Gent, D.B., Cole, R.J., Valdes, J.J., Eldefrawi, M.E., Eldefrawi, A.T., 1987. Action of tremorgenic mycotoxins on GABA_A receptor 41, 8.
- Gizachew, D., Hsu, Y.-C., Szonyi, B., Ting, W.E., 2019. Effect of water activity, temperature, and incubation period on fungal growth and ochratoxin A production on Nyjer seeds. *Mycotoxin Res.* 35, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12550-018-0325-2>
- Gock, M.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I., Poulos, P.G., 2003. Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 81, 11–19. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00166-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00166-6)
- Goda, A.A., Naguib, K.M., Mohamed, M.M., Amra, H.A., Nada, S.A., Abdel-Ghaffar, A.-R.B., Gissendanner, C.R., El Sayed, K.A., 2016. Astaxanthin and Docosahexaenoic Acid Reverse the Toxicity of the Maxi-K (BK) Channel Antagonist Mycotoxin Penitrem A. *Mar. Drugs* 14, 208. <https://doi.org/10.3390/md14110208>
- Goda, A.A., Siddique, A.B., Mohyeldin, M., Ayoub, N.M., El Sayed, K.A., 2018. The Maxi-K (BK) Channel Antagonist Penitrem A as a Novel Breast Cancer-Targeted Therapeutic. *Mar. Drugs* 16, E157. <https://doi.org/10.3390/md16050157>
- Grancher, D., Bony, S., 2003. Les mycotoxicoses trémorgènes chez les ruminants [en ligne]. SNGTV. URL <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/les-mycotoxicoses-tremorgenes-chez-les-ruminants/> (consulté le 09/08/21).
- Gu, B., He, S., Yan, X., Zhang, L., 2013. Tentative biosynthetic pathways of some microbial diketopiperazines. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 8439–8453. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5175-4>
- Guegan, H., Gangneux, J.-P., 2017. Résistance aux azolés chez *Aspergillus*. *J. Anti-Infect.* 19, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2017.10.001>

- Gwaltney-Brant, S., Meadows, I., 2018. Intravenous Lipid Emulsions in Veterinary Clinical Toxicology. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., Common Toxicologic Issues in Small Animals: An Update* 48, 933–942. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.006>
- Häggbloom, P., 1990. Isolation of Roquefortine C from Feed Grain. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2924–2926.
- Hayes, A.W., Presley, D.B., Neville, J.A., 1976. Acute toxicity of penitrem A in dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 35, 311–320. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(76\)90290-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(76)90290-8)
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P.M., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P.B., McLaughlin, D.J., Powell, M.J., Redhead, S., Schoch, C.L., Spatafora, J.W., Stalpers, J.A., Vilgalys, R., Aime, M.C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G.L., Castlebury, L.A., Crous, P.W., Dai, Y.-C., Gams, W., Geiser, D.M., Griffith, G.W., Gueidan, C., Hawksworth, D.L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R.A., Hyde, K.D., Ironside, J.E., Kõljalg, U., Kurtzman, C.P., Larsson, K.-H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miądlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J.-M., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J.D., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J.P., Schüßler, A., Sugiyama, J., Thorn, R.G., Tibell, L., Untereiner, W.A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M.M., Winka, K., Yao, Y.-J., Zhang, N., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.* 111, 509–547. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.004>
- Hikasa, Y., Kubota, M., Takase, K., Kakuta, T., Ogasawara, S., 1993. Effects of thiopental, ketamine, diazepam, xylazine, and nitrous oxide on EEG spike activity and convulsive behavior during enflurane anesthesia in atropinized cats. Effect of increasing inhalant concentrations. *Vet. Surg. VS* 22, 311–317. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950x.1993.tb00406.x>
- Hocking, A.D., Holds, K., Tobin, N.F., 1988. Intoxication by tremorgenic mycotoxin (penitrem A) in a dog. *Aust. Vet. J.* 65, 82–85. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1988.tb07366.x>
- Hollywood, M.A., McCloskey, K.D., McHale, N.G., Thornbury, K.D., 2000. Characterization of outward K⁺ currents in isolated smooth muscle cells from sheep urethra. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 279, C420–C428. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.2.C420>
- Hymery, N., Vasseur, V., Coton, M., Mounier, J., Jany, J.-L., Barbier, G., Coton, E., 2014. Filamentous Fungi and Mycotoxins in Cheese: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 437–456. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12069>
- Imlach, W.L., Finch, S.C., Dunlop, J., Meredith, A.L., Aldrich, R.W., Dalziel, J.E., 2008. The molecular mechanism of “ryegrass staggers,” a neurological disorder of K⁺ channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 327, 657–664. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.143933>
- Islam, M.T., 2017. Diterpenes and Their Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Phytother. Res.* 31, 691–712. <https://doi.org/10.1002/ptr.5800>
- Ito, M., Itō, M., 1984. *The Cerebellum and Neural Control*. Raven Press.
- Jaspard, E., 2021. *Metabolisme secondaire secondary metabolism Enseignement recherche biochimie enzymologie bioinformatique Emmanuel Jaspard Université Angers biochimej [en ligne]*. URL <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/Zsuite/6BiochMetabSUITE/2MetabolismeSecondaire/1MetabolismeSecondaire.htm> (consulté le 02/05/20).

- Jayashree, T., Subramanyam, C., 2000. Oxidative stress as a prerequisite for aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 981–5. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00398-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00398-1)
- Jesus, A.E. de, Gorst-Allman, C.P., Steyn, P.S., Heerden, F.R. van, Vleggaar, R., Wessels, P.L., Hull, W.E., 1983. Tremorgenic mycotoxins from *Penicillium crustosum*. Biosynthesis of penitrem A. *J. Chem. Soc. Perkin 1* 1863–1868. <https://doi.org/10.1039/P19830001863>
- Jeunot, B., 2005. Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation (other). UHP - Université Henri Poincaré.
- Kalinina, S.A., Jagels, A., Cramer, B., Geisen, R., Humpf, H.-U., 2017. Influence of Environmental Factors on the Production of Penitrems A–F by *Penicillium crustosum*. *Toxins* 9, 210. <https://doi.org/10.3390/toxins9070210>
- Kalinina, S.A., Jagels, A., Cramer, B., Humpf, H.U., 2016. Indole alkaloids from *Penicillium* genus: Identification, isolation, structure elucidation and cytotoxicity, in: *Planta Medica*. Presented at the Abstracts 9th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, JSP, PSE & SIF, Georg Thieme Verlag KG, p. P654. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1596708>
- Kammerer, M., Pouliquen, H., 2015. Presumptive mycotoxicosis in dog after eating mouldy walnuts. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 38, 62–63.
- Karami, F., Omrani, G.A., Shoeibi, S., Ranjbar, R., Sarshar, M., Tabaraie, B., Rahimi-Fard, N., 2014. The study of mycotoxins contamination in recycled waste bread in two municipal areas in Tehran, Iran. *J. Isfahan Med. Sch.* 32, 1567–1576.
- Keller, S.E., Sullivan, T.M., Chirtel, S., 1997. Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 19, 305–309. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900466>
- Knaus, H.-G., McManus, O.B., Schmalhofer, W.A., Garcia-Calvo, M., Helms, L.M.H., Sanchez, M., Giangiacomo, K., Reuben, J.P., Kaczorowski, G.J., Garcia, M.L., Lee, S.H., Smith, A.B., III, 1994. Tremorgenic Indole Alkaloids Potently Inhibit Smooth Muscle High-Conductance Calcium-Activated Potassium Channels. *Biochemistry* 33, 5819–5828. <https://doi.org/10.1021/bi00185a021>
- Kokkonen, M., Jestoi, M., Rizzo, A., 2005. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 99, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.014>
- Kormpou, F., O’Sullivan, A., Troth, L., Adamantos, S., 2018. Use of Intravenous Lipid Emulsion in Dogs With Suspected Tremorgenic Mycotoxicosis: 53 Cases. *Vet. Evid.* 3. <https://doi.org/10.18849/ve.v3i2.166>
- Kothary, M.H., Chase, T., Macmillan, J.D., 1984. Levels of *Aspergillus fumigatus* in air and in compost at a sewage sludge composting site. *Environ. Pollut. Ser. Ecol. Biol.* 34, 1–14. [https://doi.org/10.1016/0143-1471\(84\)90084-9](https://doi.org/10.1016/0143-1471(84)90084-9)
- Kozák, L., Szilágyi, Z., Tóth, L., Pócsi, I., Molnár, I., 2019. Tremorgenic and neurotoxic paspaline-derived indole-diterpenes: biosynthetic diversity, threats and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 1599–1616. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09594-x>
- Kshatri, A.S., Gonzalez-Hernandez, A., Giraldez, T., 2018. Physiological Roles and Therapeutic Potential of Ca²⁺ Activated Potassium Channels in the Nervous System. *Front. Mol. Neurosci.* 11.

- Laws, I., Mantle, P.G., 1987. Elimination of roquefortine in the rat. *Mycotoxin Res.* 3, 3–6. <https://doi.org/10.1007/BF03191978>
- Laws, I., Mantle, P.G., Smith, B.L., 1987. Excretion and transformation of [14C] penitrem mycotoxins in sheep bile. *Res. Vet. Sci.* 43, 199–202. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30773-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30773-2)
- Lefebvre, S., 2020. Bases de la nutrition du chien et du chat.
- Leuchtmann, A., Schardl, C., White, J., Tadych, M., 2014. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycologia* 106, 202–215. <https://doi.org/10.3852/106.2.202>
- Lheureux, L., Bailly, S., Kammerer, M., 2018. Intoxication par les mycotoxines tremorgènes chez le chien. *Toxicol. Anal. Clin.* 30, 159–160. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2018.07.083>
- Liu, C., Minami, A., Dairi, T., Gomi, K., Scott, B., Oikawa, H., 2016a. Biosynthesis of Shearinine: Diversification of a Tandem Prenyl Moiety of Fungal Indole Diterpenes. *Org. Lett.* 18, 5026–5029. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b02482>
- Liu, C., Minami, A., Dairi, T., Gomi, K., Scott, B., Oikawa, H., 2016b. Biosynthesis of Shearinine: Diversification of a Tandem Prenyl Moiety of Fungal Indole Diterpenes. *Org. Lett.* 18, 5026–5029. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b02482>
- Liu, C., Tagami, K., Minami, A., Matsumoto, T., Frisvad, J.C., Suzuki, H., Ishikawa, J., Gomi, K., Oikawa, H., 2015. Reconstitution of biosynthetic machinery for the synthesis of the highly elaborated indole diterpene penitrem. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 54, 5748–5752. <https://doi.org/10.1002/anie.201501072>
- Lowes, N., Smith, R., Beck, B., 1992. Roquefortine in the stomach contents of dogs suspected of strychnine poisoning in Alberta. *Can. Vet. J. Rev. Vét. Can.* 33, 535–8.
- Luchese, R.H., Harrigan, W. f., 1993. Biosynthesis of aflatoxin—the role of nutritional factors. *J. Appl. Bacteriol.* 74, 5–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb02989.x>
- Ludlow, E.J., Vassiliadis, S., Ekanayake, P.N., Hettiarachchige, I.K., Reddy, P., Sawbridge, T.I., Rochfort, S.J., Spangenberg, G.C., Guthridge, K.M., 2019. Analysis of the Indole Diterpene Gene Cluster for Biosynthesis of the Epoxy-Janthitrems in *Epichloë* Endophytes. *Microorganisms* 7, 560. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110560>
- Mackintosh, C.G., Orr, M.B., Gallagher, R.T., Harvey, I.C., 1982. Ryegrass staggers in Canadian wapiti deer. *N. Z. Vet. J.* 30, 106–107. <https://doi.org/10.1080/00480169.1982.34899>
- Mantle, P.G., 2009. The role of tryptophan as a biosynthetic precursor of indole-diterpenoid fungal metabolites: continuing a debate. *Phytochemistry* 70, 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.11.004>
- Mantle, P.G., Mortimer, P.H., White, E.P., 1978. Mycotoxic tremorgens of *Claviceps paspali* and *Penicillium cyclopium*: a comparative study of effects on sheep and cattle in relation to natural staggers syndromes. *Res. Vet. Sci.* 24, 49–56. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)33097-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)33097-2)
- Martin, N.H., Snyder, A., Wiedmann, M., 2020. Yeasts and Molds: Spoilage Mold in Dairy Products ☆, in: Reference Module in Food Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.23017-5>

- Mcleay, L.M., Smith, B.L., 1999. Effects of the mycotoxins lolitrem B and paxilline on gastrointestinal smooth muscle, the cardiovascular and respiratory systems, and temperature in sheep. *NZGA Res. Pract. Ser.* 7, 69–75. <https://doi.org/10.33584/rps.7.1999.3395>
- McMillan, L.K., Carr, R.L., Young, C.A., Astin, J.W., Lowe, R.G.T., Parker, E.J., Jameson, G.B., Finch, S.C., Miles, C.O., McManus, O.B., Schmalhofer, W.A., Garcia, M.L., Kaczorowski, G.J., Goetz, M., Tkacz, J.S., Scott, B., 2003. Molecular analysis of two cytochrome P450 monooxygenase genes required for paxilline biosynthesis in *Penicillium paxilli*, and effects of paxilline intermediates on mammalian maxi-K ion channels. *Mol. Genet. Genomics* 270, 9–23. <https://doi.org/10.1007/s00438-003-0887-2>
- Menna, M.E. di, Lauren, D.R., Wyatt, P.A., 1986. Effect of culture conditions on tremorgen production by some *Penicillium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 821–824.
- Moldes-Anaya, A., Rundberget, T., Fæste, C.K., Eriksen, G.S., Bernhoft, A., 2012. Neurotoxicity of *Penicillium crustosum* secondary metabolites: Tremorgenic activity of orally administered penitrem A and thomitrem A and E in mice. *Toxicon* 60, 1428–1435. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.10.007>
- Moldes-Anaya, A., Wilkins, A.L., Rundberget, T., Fæste, C.K., 2009. In vitro and in vivo hepatic metabolism of the fungal neurotoxin penitrem A. *Drug Chem. Toxicol.* 32, 26–37. <https://doi.org/10.1080/01480540802416232>
- Moldes-Anaya, Rundberget, Uhlig, Rise, F., Wilkins, 2011. Isolation and structure elucidation of secopenitrem D, an indole alkaloid from *Penicillium crustosum* Thom. *Toxicon* 57, 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.11.020>
- Motoyama, T., Hayashi, T., Hirota, H., Ueki, M., Osada, H., 2012. Terpendole E, a kinesin Eg5 inhibitor, is a key biosynthetic intermediate of indole-diterpenes in the producing fungus *Chaunopycnis alba*. *Chem. Biol.* 19, 1611–1619. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.10.010>
- Munday, J.S., Thompson, D., Finch, S.C., Babu, J.V., Wilkins, A.L., di Menna, M.E., Miles, C.O., 2008. Presumptive tremorgenic mycotoxicosis in a dog in New Zealand, after eating mouldy walnuts. *N. Z. Vet. J.* 56, 145–147. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36823>
- Munday, J. S., Thompson, D., Finch, S.C., Babu, J.V., Wilkins, A.L., di Menna, M.E., Miles, C.O., 2008. Presumptive tremorgenic mycotoxicosis in a dog in New Zealand, after eating mouldy walnuts. *N. Z. Vet. J.* 56, 145–148. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36823>
- MycoFoss™ - Fully automated mycotoxin testing in just a few minutes [en ligne], URL <https://www.fossanalytics.com/en/products/mycofoss> (consulté le 12/04/22)
- Mycotoxines [en ligne], LABOCEA, URL <https://www.labocea.fr/agroalimentaire/recherche-de-mycotoxines/> (consulté le 19/08/22)
- Naudé, T.W., O'Brien, O.M., Rundberget, T., McGregor, A.D.G., Roux, C., Flåøyen, A., 2002. Tremorgenic neuromycotoxicosis in 2 dogs ascribed to the ingestion of penitrem A and possibly roquefortine in rice contaminated with *Penicillium crustosum*. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 73, 211–215.
- Nicholson, M.J., Eaton, C.J., Stärkel, C., Tapper, B.A., Cox, M.P., Scott, B., 2015. Molecular Cloning and Functional Analysis of Gene Clusters for the Biosynthesis of Indole-Diterpenes in *Penicillium crustosum* and *P. janthinellum*. *Toxins* 7, 2701–2722. <https://doi.org/10.3390/toxins7082701>

- Nishie, K., Cole, R.J., Dorner, J.W., 1985. Toxicity and neuropharmacology of cyclopiazonic acid. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 23, 831–839. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90284-4](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90284-4)
- Norris, P.J., Smith, C.C.T., Bellerocche, J.D., Bradford, H.F., Mantle, P.G., Thomas, A.J., Penny, R.H.C., 1980. Actions of Tremorgenic Fungal Toxins on Neurotransmitter Release. *J. Neurochem.* 34, 33–42. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1980.tb04618.x>
- Parker, E.J., Scott, D.B., 2004. Indole-Diterpene Biosynthesis in Ascomycetous Fungi, in: *Handbook of Industrial Mycology*. CRC Press.
- Parratt, C., 2015. Intravenous Lipid Rescue for tremorgenic mycotoxicosis in a dog : novel assessment of response using a smartphone. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.21222.88641>
- Payne, G.A., Hagler, W.M., 1983. Effect of specific amino acids on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in defined media. *Appl. Environ. Microbiol.* 46, 805–812.
- Perera, K.P.W.C., Mantle, P.G., Penny, R.H.C., 1982. Metabolism and excretion of [¹⁴C] verruculogen in a sheep. *Res. Vet. Sci.* 32, 347–350. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)32393-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32393-2)
- Peterson, D.W., Penny, R.H.C., Day, J.B., Mantle, P.G., 1982. A comparative study of sheep and pigs given the tremorgenic mycotoxins verruculogen and penitrem A. *Res. Vet. Sci.* 33, 183–187. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)32332-4](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32332-4)
- Peterson, M.E., Talcott, P.A., 2013. *Small Animal Toxicology*. Elsevier Health Sciences.
- Puls, R., Ladyman, E., 1988. Roquefortine Toxicity in a Dog. *Can. Vet. J.* 29, 569.
- Puschner, B., 2002. Mycotoxins. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 32, 409–419. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(01\)00011-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(01)00011-0)
- Raffan, E., Dennis, R.J., O'Donovan, C.J., Becker, J.M., Scott, R.A., Smith, S.P., Withers, D.J., Wood, C.J., Conci, E., Clements, D.N., Summers, K.M., German, A.J., Mellersh, C.S., Arendt, M.L., Iyemere, V.P., Withers, E., Söder, J., Wernersson, S., Andersson, G., Lindblad-Toh, K., Yeo, G.S.H., O'Rahilly, S., 2016. A Deletion in the Canine POMC Gene Is Associated with Weight and Appetite in Obesity-Prone Labrador Retriever Dogs. *Cell Metab.* 23, 893–900. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.012>
- Rathnayake, A., Saravanakumar, K., Abuine, R., Abeywickrema, S., Kathiresan, K., MubarakAli, D., Gupta, V.K., Wang, M.-H., 2020. Fungal Genes Encoding Enzymes Used in Cheese Production and Fermentation Industries. pp. 305–329. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41870-0_13
- RCP Emedog [en ligne], 2022. . Index Médicam. Vét. Aut. En Fr. URL <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=EMEDOG+1+MG%2FML+SOLUTION+INJE CTABLE+POUR+CHIENS> (consulté le 19/08/22).
- Richard, J.L., Arp, L.H., 1979. Natural occurrence of the mycotoxin penitrem a in moldy cream cheese. *Mycopathologia* 67, 107–109. <https://doi.org/10.1007/BF00440681>
- Richard, J.L., Bacchetti, P., Arp, L.H., 1981. Moldy walnut toxicosis in a dog, caused by the mycotoxin, penitrem A. *Mycopathologia* 76, 55–58. <https://doi.org/10.1007/BF00761899>
- Rudolph, U., Crestani, F., Möhler, H., 2001. Rudolph U, Crestani F, Mohler H. GABAA receptor subtypes: dissecting their pharmacological functions. *Trends Pharmacol Sci* 22: 188-194. *Trends Pharmacol. Sci.* 22, 188–94. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01646-1](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01646-1)

- Rudolph, W., Remane, D., Wissenbach, D.K., Peters, F.T., 2018. Development and validation of an ultrahigh performance liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry assay for nine toxic alkaloids from endophyte-infected pasture grasses in horse serum. *J. Chromatogr. A* 1560, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.05.013>
- Rundberget, T., Skaar, I., Flåøyen, A., 2004. The presence of *Penicillium* and *Penicillium* mycotoxins in food wastes. *Int. J. Food Microbiol.* 90, 181–188. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00291-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00291-5)
- Rundberget, T., Wilkins, A.L., 2002. Determination of *Penicillium* mycotoxins in foods and feeds using liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 964, 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00698-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00698-2)
- Sabater-Vilar, M., Maas, R.F., De Bosschere, H., Ducatelle, R., Fink-Gremmels, J., 2004. Patulin produced by an *Aspergillus clavatus* isolated from feed containing malting residues associated with a lethal neurotoxicosis in cattle. *Mycopathologia* 158, 419–426. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-2877-x>
- Sabater-Vilar, M., Nijmeijer, S., Fink-Gremmels, J., 2003. Genotoxicity Assessment of Five Tremorgenic Mycotoxins (Fumitremorgen B, Paxilline, Penitrem A, Verruculogen, and Verrucosidin) Produced by Molds Isolated from Fermented Meats. *J. Food Prot.* 66, 2123–2129. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.11.2123>
- Saikia, S., Takemoto, D., Tapper, B.A., Lane, G.A., Fraser, K., Scott, B., 2012. Functional analysis of an indole-diterpene gene cluster for lolitrem B biosynthesis in the grass endosymbiont *Epichloë festucae*. *FEBS Lett.* 586, 2563–2569. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.06.035>
- Sallam, A.A., Houssen, W.E., Gissendanner, C.R., Orabi, K.Y., Foudah, A.I., Sayed, K.A.E., 2013. Bioguided discovery and pharmacophore modeling of the mycotoxic indole diterpene alkaloids penitremes as breast cancer proliferation, migration, and invasion inhibitors. *MedChemComm* 4, 1360–1369. <https://doi.org/10.1039/C3MD00198A>
- Schildt, J.C., Jutkowitz, L.A., 2009. Chapter 77 - Approach to Poisoning and Drug Overdose, in: Silverstein, D.C., Hopper, K. (Eds.), *Small Animal Critical Care Medicine*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 326–329. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-2591-7.10077-3>
- Schmidt-Heydt, M., Graf, E., Stoll, D., Geisen, R., 2012. The biosynthesis of ochratoxin A by *Penicillium* as one mechanism for adaptation to NaCl rich foods. *Food Microbiol.* 29, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.08.003>
- Schmidt-Heydt, M., Rüfer, C., Raupp, F., Lamprecht, A., Perrone, G., Geisen, R., 2011. Influence of light on food relevant fungi with emphasis on ochratoxin producing species. *Int. J. Food Microbiol.* 145, 229–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.022>
- Scott, B., Young, C.A., Saikia, S., McMillan, L.K., Monahan, B.J., Koulman, A., Astin, J., Eaton, C.J., Bryant, A., Wrenn, R.E., Finch, S.C., Tapper, B.A., Parker, E.J., Jameson, G.B., 2013. Deletion and Gene Expression Analyses Define the Paxilline Biosynthetic Gene Cluster in *Penicillium paxilli*. *Toxins* 5, 1422–1446. <https://doi.org/10.3390/toxins5081422>
- Scott, P., Kennedy, B., Harwig, J., Blanchfield, B., 1977. Study of conditions of production of roquefortine and other metabolites of *Penicillium roqueforti*. *Appl. Environ. Microbiol.* <https://doi.org/10.1128/AEM.33.2.249-253.1977>

- Scott, P.M., Kennedy, B.P.C., 1976. Analysis of blue cheese for roquefortine and other alkaloids from *Penicillium roqueforti*. *J. Agric. Food Chem.* 24, 865–868. <https://doi.org/10.1021/jf60206a028>
- Selala, M.I., Daelemans, F., Schepens, P.J.C., 1989. Fungal tremorgens: The mechanism of action of single nitrogen containing toxins - a hypothesis. *Drug Chem. Toxicol.* 12, 237–257. <https://doi.org/10.3109/01480548908999156>
- Serres, M.P., Besson, A., 2009. Rôle majeur pour p27 dans l'activité anti-tumorale d'un inhibiteur du protéasome. *médecine/sciences* 25, 213–214. <https://doi.org/10.1051/medsci/2009253213>
- Sings, H., Singh, S., 2003. Tremorgenic and nontremorgenic 2,3-Fused indole diterpenoids, in: *The Alkaloids: Chemistry and Biology*. Elsevier, pp. 51–163. [https://doi.org/10.1016/S0099-9598\(03\)60002-7](https://doi.org/10.1016/S0099-9598(03)60002-7)
- Smith, B.L., McLeay, L.M., Embling, P.P., 1997. Effect of the mycotoxins penitrem, paxilline and lolitrem B on the electromyographic activity of skeletal and gastrointestinal smooth muscle of sheep. *Res. Vet. Sci.* 62, 111–116. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(97\)90130-2](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(97)90130-2)
- Sobotka, T.J., Brodie, R.E., Spaid, S.L., 1978. Neurobehavioral studies of tremorgenic mycotoxins verruculogen and penitrem A. *Pharmacology* 16, 287–294. <https://doi.org/10.1159/000136781>
- Sumarah, M., Miller, J., Blackwell, B., 2005. Isolation and metabolite production by *Penicillium roqueforti*, *P. paneum* and *P. crustosum* isolated in Canada. *Mycopathologia* 159, 571–7. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-5257-7>
- Tabuc, C., 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines 190.
- Tagami, K., Liu, C., Minami, A., Noike, M., Isaka, T., Fueki, S., Shichijo, Y., Toshima, H., Gomi, K., Dairi, T., Oikawa, H., 2013. Reconstitution of biosynthetic machinery for indole-diterpene paxilline in *Aspergillus oryzae*. *J. Am. Chem. Soc.* 135, 1260–1263. <https://doi.org/10.1021/ja3116636>
- Taniwaki, M.H., Hocking, A.D., Pitt, J.I., Fleet, G.H., 2001. Growth of fungi and mycotoxin production on cheese under modified atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* 68, 125–133. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00487-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00487-1)
- Tannous, J., 2015. Patuline, mycotoxine de *Penicillium expansum*, principal pathogène post-récolte des pommes : nouvelles données sur sa biosynthèse et développement d'approches préventives (These de doctorat). Toulouse, INPT.
- Tiwary, A.K., Puschner, B., Poppenga, R.H., 2009. Using Roquefortine C as a Biomarker for Penitrem A Intoxication. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 237–239. <https://doi.org/10.1177/104063870902100210>
- Tor, E.R., Puschner, B., Filigenzi, M.S., Tiwary, A.K., Poppenga, R.H., 2006. LC-MS/MS Screen for Penitrem A and Roquefortine C in Serum and Urine Samples. *Anal. Chem.* 78, 4624–4629. <https://doi.org/10.1021/ac0601617>
- Uhlig, S., Botha, C.J., Vrålstad, T., Rolén, E., Miles, C.O., 2009. Indole-Diterpenes and Ergot Alkaloids in *Cynodon dactylon* (Bermuda Grass) Infected with *Claviceps cynodontis* from an Outbreak of Tremors in Cattle. *J. Agric. Food Chem.* 57, 11112–11119. <https://doi.org/10.1021/jf902208w>
- Uhlig, S., Ivanova, L., Voorspoels, P., Fæste, C.K., 2020. In Vitro Toxicokinetics and Phase I Biotransformation of the Mycotoxin Penitrem A in Dogs. *Toxins* 12, 293. <https://doi.org/10.3390/toxins12050293>

- Van de Bittner, K.C., Nicholson, M.J., Bustamante, L.Y., Kessans, S.A., Ram, A., van Dolleweerd, C.J., Scott, B., Parker, E.J., 2018. Heterologous Biosynthesis of Nodulisporic Acid F. *J. Am. Chem. Soc.* 140, 582–585. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b10909>
- Wagener, R.E., Davis, N.D., Diener, U.L., 1980. Penitrem A and Roquefortine Production by *Penicillium commune*. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 882–887.
- Walter, S.L., 2002. Acute penitrem A and roquefortine poisoning in a dog. *Can. Vet. J.* 43, 372–374.
- Wang, L., Cross, A.L., Allen, K.L., Smith, B.L., McLeay, L.M., 2003. Tremorgenic mycotoxins increase gastric smooth muscle activity of sheep reticulum and rumen in vitro. *Res. Vet. Sci.* 74, 93–100. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00153-4](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00153-4)
- Waratuke, K., 2017. Tremorgenic Mycotoxin Intoxication In Dogs [en ligne]. *Today's Vet. Pract.* URL <https://todaysveterinarypractice.com/practical-toxicologytremorgenic-mycotoxin-intoxication-dogs/> (consulté le 01/09/22).
- Whitlow, L., Hagler, W., 2008. Mold and Mycotoxin Issues in Dairy Cattle: Effects, Prevention and Treatment. *Adv. Dairy Technol. Vol 20 Proc West. Can. Dairy Semin. Red Deer AB Can.*
- Wilson, B.J., Hoekman, T., Dettbarn, W.-D., 1972. Effects of a fungus tremorgenic toxin (penitrem A) on transmission in rat phrenic nerve-diaphragm preparations. *Brain Res.* 40, 540–544. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90159-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90159-X)
- Wilson, B.J., Wilson, C.H., Hayes, A.W., 1968. Tremorgenic Toxin from *Penicillium cyclopium* grown on Food Materials. *Nature* 220, 77–78. <https://doi.org/10.1038/220077b0>
- Wilson, C.H., 1964. Toxin from *Aspergillus flavus*: Production on Food Materials of a Substance Causing Tremors in Mice [en ligne]. URL <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.144.3615.177> (consulté le 01/09/22).
- Young, C., McMillan, L., Telfer, E., Scott, B., 2001. Molecular cloning and genetic analysis of an indole-diterpene gene cluster from *Penicillium paxilli*. *Mol. Microbiol.* 39, 754–764. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02265.x>
- Young, C.A., Felitti, S., Shields, K., Spangenberg, G., Johnson, R.D., Bryan, G.T., Saikia, S., Scott, B., 2006. A complex gene cluster for indole-diterpene biosynthesis in the grass endophyte *Neotyphodium lolii*. *Fungal Genet. Biol.* 43, 679–693. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.04.004>
- Young, K.L., Villar, D., Carson, T.L., Imerman, P.M., Moore, R.A., Bottoff, M.R., 2003. Tremorgenic mycotoxin intoxication with penitrem A and roquefortine in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222, 52–53. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.222.52>
- Zhang, S., Monahan, B.J., Tkacz, J.S., Scott, B., 2004. Indole-diterpene gene cluster from *Aspergillus flavus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 6875–6883. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.11.6875-6883.2004>

Annexes

Annexe 1 : Cas d'intoxications canines au pénitrème A ou à la roquefortine C démontrés par analyse

Publication	Nombre de chiens intoxiqués	Denrées alimentaires consommées	Mycotoxines mises en évidence	Lieu de détection des mycotoxines	Délai d'apparition des symptômes	Évolution du cas
(Richard and Arp, 1979) (Arp and Richard, 1979)	2	Fromage à la crème (réfrigérée)	Pénitrème A	Aliment	?	Récupération en 12 h après traitement
(Hocking et al., 1988)	1	Pain à hamburger (moisi)	Pénitrème A	Aliment	2 à 4 h	Récupération en 2 semaines après traitement
(Puls and Ladyman, 1988)	1	Fromage bleu (très fortement moisi)	Roquefortine C	Aliment	?	Mort de l'animal
(Lowe et al., 1992)	1	?	Roquefortine C	Contenu des vomissements	?	Récupération en 48 h avec traitement
	1	?	Roquefortine C	Contenu des vomissements	?	Récupération en 48 h avec traitement
	1	?	Roquefortine C	Contenu digestif	?	Récupération en 24 h avec traitement
	1	?	Roquefortine C	Contenu digestif	?	Récupération en 48 h avec traitement
	1	?	Roquefortine C	Contenu digestif	?	Mort en moins de 24 h
	1	?	Roquefortine C	Contenu digestif	?	Euthanasie
(Boysen et al., 2002)	4	Compost	Pénitrème A et roquefortine	Contenu digestif	De 45 minutes à 2 h	Récupération en quelques jours avec traitement (moins de 96 h)
(Naudé et al., 2002)	2	Riz cuit (moisi)	Pénitrème A et roquefortine	Contenu des vomissements	2 à 3 h	Récupération en une nuit avec traitement
(Walter, 2002)	1	Déchets alimentaires	Pénitrème A et roquefortine	Contenus des vomissements	Moins de 12 h	Récupération en moins de 4 jours avec traitement
(Young et al., 2003)	1	Fromage à la crème (moisi)	Pénitrème A et	Aliment	Moins de 2 h	Quasi Récupération en

			roquefortine C			1 semaine avec traitement
	1	Macaronis et fromage (moisis)	Pénitrème A	Aliment	1 h et 30 minutes	Récupération en 1 semaine avec traitement
(Tiwary et al., 2009)	1	?	Pénitrème A et roquefortine C	Contenu digestif, sérum et urine (pour la roquefortine C)	?	Euthanasie
	1	?	Pénitrème A et roquefortine C	Contenu des vomissements	?	Amélioration rapide avec traitement
(Eriksen et al., 2010)	1	200g de saucisse pour chien moisie	Pénitrème A, B, D, E, F	Aliment	Moins de 30 minutes	Récupération en 6 à 7 mois avec traitement
	1	Pomme pourrie	Pénitrème A et E, roquefortine C	Aliment	3 h	Récupération en 12 jours avec traitement
	1	Déchets alimentaires divers	/	/	1 heure	Récupération en 6 jours avec traitement
	1	?	Pénitrème A, B, D et E, roquefortine C	Organes (foie, reins, cerveau), et contenu de l'estomac	?	Euthanasie le lendemain de l'admission
	1	?	/	/	30 minutes	Animal ataxique à vie
	1	?	Pénitrème A et thomitrèmes	Contenu des vomissements	?	Quelques heures, sans aucun traitement
(Richard et al., 1981)	1	Noix moisies	Pénitrème A	Aliment	2 à 3 h	Récupération en 36 h avec traitement
(J.S. Munday et al., 2008)	1	Noix moisies	Pénitrèmes A, B, C, D, E et F, roquefortine C	Aliment	3 h	Récupération en 24 h après traitement

Annexe 2 : Race, sexe, âge et poids des chiens victimes d'intoxication au pénitrem A ou à la roquefortine C démontrée par analyse

Publication	Nombre de chiens intoxiqués	Race du chien	Sexe du chien	Age du chien	Poids du chien
(Richard and Arp, 1979) (Arp and Richard, 1979)	1	Kelpie	?	3 mois	?
	1	Setter Irlandais	?	1 an	?
(Hocking et al., 1988)	1	Husky sibérien	?	1 an	20 kg
(Puls and Ladyman, 1988)	1	Croisé Fox terrier pékinois	Mâle castré	8 ans	6,4 kg
(Lowes et al., 1992)	1	Berger Shetland	Mâle	9 mois	?
	1	Terrier irlandais à poils doux	Femelle	11 mois	?
	1	Larbrador	Mâle	1 an	?
	1	Dalmatien	Femelle	11 mois	?
	1	Spitz nain	Femelle	6 ans	?
	1	Terrier australien à poils soyeux	Mâle	6 ans	?
(Boysen et al., 2002)	4	3 Shih Tzu	Mâle	7 ans	11 kg
			Mâle castré	5 ans	9 kg
			Mâle	2 ans	8,5 kg
		Montagne des Pyrénées	Mâle castré	2 ans	45 kg
(Naudé et al., 2002)	2	Schnauzer nain	Femelle stérilisée	2 ans	20 kg
		Croisé Schnauzer	?	3 ans	25 kg
(Walter, 2002)	1	Labrador	Mâle castré	4 ans	45 kg
(Young et al., 2003)	1	Labrador	Femelle	11 ans	?
	1	Labrador	Mâle	3 ans	?
(Tiwary et al., 2009)	1	Labrador	Mâle castré	5 ans	35 kg
	1	Croisé Yorkshire terrier et Chihuahua	Femelle stérilisée		
(Eriksen et al., 2010)	1	Staffordshire bull terrier	Femelle	1 an	15,5 kg
	1	Basset hound	Femelle	6 ans	?

	1	Beagle	Mâle	5 ans	?
	1	Welsh Springer Spaniel	Mâle	5 ans	?
	1	Caniche	Femelle	4 ans	?
	1	Setter anglais	Mâle	10 ans	?
(Richard et al., 1981)	1	Boxer	Femelle stérilisée	6 ans	27 kg
(J.S. Munday et al., 2008)	1	Croisé Labrador	Mâle	1 an	?

Annexe 3 : Exemple d'une fiche V-Tox® complétée lors d'une suspicion d'intoxication animale (Source : CNITV)

ref. 22 EHVL 03044 date 06/03/2022 heure 15:03:00 répondant Etudiant du CNITV Nouveau cas ancien N° Valdeur

Motif appelé Traitement Lieu intox ? Circonstances ? Avant consultation Courrier

DEMANDEUR: qualité Vétérinaire praticien nom GIRALDEAU C.P. 18300

ANIMAUX

Espèce	Race	Sexe	Age	Poids	Exposés	Attetés	Morts	Gérés
Oien	?	F	Adulte 6a	?	1	1	0	0

TOXIQUES

Chercher un toxique par le nom Calcul de dose

FluoreDer ND **PEU PROBABLE**

Rub: **PLANTES** Fam:

Voie: ? Dose: ? Débit apparait: ? Durée évo: 12-24 h

Rq:

Mycotoxine NP ND **PEU PROBABLE**

Rub: **Mycotoxines** Fam:

Voie: ? Dose: ? Débit apparait: ? Durée évo: 12-24 h

Rq:

SYMPTÔMES / LÉSIONS

Créer un nouveau symptôme Chercher syms

Debut	Cote	Symptôme	Précision
Y B C 3		Convulsions NP	
Y 2 2 0		Hypothermie	
Y 2 2 2		Myose	
Y 2 2 2		Vomissements	

Evolution: Très faible

Traitement: Conforté

Evolution: Inconnue

Evolution: Sévère

Lien lib: Lien pharmaco:

Rq: -la véto a apparemment appelé hier donc je n'ai pas pris les infos sur le chien mais je n'ai pas trouvé de fiche qui correspond
-chien amené hier pour convulsions, pas passées avec valium, médéomidine et kétamine mais passées avec dolethal 4mg/kg, ce matin il tremble encore un peu, hypothermie et myose, elle voulait savoir si ça pouvait mener à d'autre hypothèse que le chloralose proposé hier
-VTOX + cours

<< 29/29 >>

Annuler Valider

Questionnaire d'étude prospective sur l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez le chien

Animal :

- 1) L'animal a-t-il survécu à l'intoxication ? (oui/non)
- 2) S'est-il totalement remis de l'intoxication ? (oui/non) Si non, quelle(s) séquelle(s) en a-t-il gardé ?
- 3) Combien de temps a-t-il mis à se remettre totalement de l'intoxication ? (x h, x jours)
- 4) L'animal s'était-il déjà intoxiqué avec ce toxique auparavant ? (oui/non) Un autre animal du propriétaire, ou de votre clientèle a-t-il déjà été intoxiqué par ce toxique ? (oui/non) Si oui était-ce sur la même période de l'année ? (oui/non)

Gestion de l'intoxication :

- 1) Avez-vous hospitalisé l'animal ? (oui/non) Si oui, combien de temps ? (x h, x jours)
- 2) Quel traitement avez-vous entrepris ? (traitement éliminatoire (vomissements induits, charbon végétal activé, pansement digestif, huile de paraffine... ?), traitement symptomatique (perfusion, anticonvulsivant,... ?)) Pendant combien de temps ? (moins de 24 h, de 24 à 48h, plus de 48 h)

Diagnostic :

- 1) Si la suspicion du toxique provient de l'appelant : Qu'est-ce qui vous a fait suspecter une intoxication aux mycotoxines trémorigènes chez cet animal ? (l'épidémiologie, l'anamnèse, les signes cliniques, la saison...)
- 2) Aviez-vous d'autres hypothèses diagnostiques (toxiques ou non) ? (oui/non) Si oui lesquelles ?

Connaissance du toxique et de l'intoxication :

- 1) Connaissiez-vous les mycotoxines trémorigènes avant l'appel au CNITV ? (oui/non)
- 2) Saviez-vous qu'elles étaient toxiques pour le chien ? (oui/non) Saviez-vous que les noix moisies l'étaient ? (oui/non)
- 3) Aviez-vous déjà par le passé suspecté ou été confronté à une telle intoxication ? (oui/non)
- 4) Comment estimeriez-vous la fréquence de cette intoxication ? (courante, moyennement fréquente, rare, très rare, saisonnière)
- 5) Pensez-vous avoir assez été informé lors de votre formation de vétérinaire sur l'intoxication aux mycotoxines trémorigènes (ou aux noix moisies) ? (oui/non) Si non et que la toxicité des mycotoxines et des noix était connue lors de l'appel : où l'avez-vous apprise ?

Intérêt du diagnostic de certitude :

- 1) Pensez-vous aujourd'hui qu'une intoxication aux mycotoxines était bien à l'origine des symptômes de l'animal ou avez-vous toujours des doutes sur la cause de ces troubles ? (oui/toujours des doutes)
- 2) Pensez-vous que la réalisation d'un prélèvement d'urine pour dosage des mycotoxines trémorigènes aurait eu un quelconque intérêt dans votre cas ? (oui/non) Si oui Lequel ?
- 3) Pensez-vous que certains propriétaires souhaiteraient pouvoir effectuer ces analyses pour être certains que les mycotoxines trémorigènes sont bien responsables de l'état de leur animal ? (oui/non)

**Fiche d'accompagnement pour analyse quantitative de la présence de mycotoxines trémorigènes
dans l'urine de chien**

Nom de la clinique vétérinaire	
Numéro de téléphone	
Nom du vétérinaire	
Date	
Nom du propriétaire	
Nom de l'animal	
Race de l'animal	
Heure de prélèvement	
Méthode de prélèvement de l'urine (miction spontanée, sondage urinaire, cystocentèse...)	

Méthode de prélèvement :

-prélever l'urine selon la méthode de votre choix, la mettre dans un contenant hermétique (de type pot à prélèvements en plastique transparents à couvercle rouge par exemple).

-Conserver l'urine au réfrigérateur jusqu'à son envoi.

-Envoyer le prélèvement sous couvert de froid. (si ce n'est pas possible l'envoyer à température ambiante).

En cas de question sur le prélèvement ou l'envoi contactez-le : 0636902772

MISE EN PLACE D'UNE MÉTHODE DIAGNOSTIQUE DE L'INTOXICATION AUX MYCOTOXINES TRÉMORIGÈNES CHEZ LE CHIEN

Auteur

MERKLING Axel

Résumé

Les mycotoxines trémorigènes sont des métabolites secondaires fongiques neurotoxiques produits par des moisissures du genre *Penicillium*. En raison de leur fréquente présence dans les aliments moisissés et en particulier dans les noix en décomposition tombées au pied des noyers, certaines d'entre elles, à savoir le pénitrème A et la roquefortine C, sont à l'origine d'intoxications canines. Les principaux troubles observés suite à la consommation de ces toxines sont des symptômes neuro-musculaires, parfois accompagnés de vomissements. La première partie de cette thèse consiste en une synthèse de l'ensemble des connaissances actuellement disponibles au sujet du pénitrème A, de la roquefortine C et de leurs productions, ainsi qu'en un recueil de toutes les informations décrivant les caractéristiques de l'intoxication canine à ces mycotoxines. Dans la seconde partie une étude rétrospective, prospective et analytique de suspicions d'intoxications canines aux mycotoxines trémorigènes, menée grâce aux données d'un centre antipoison vétérinaire (le CNITV) et aux moyens analytiques du laboratoire de toxicologie vétérinaire Toxlab, est présentée.

En plus de préciser les caractéristiques anamnestiques, cliniques et épidémiologiques de cette intoxication, notre étude a permis la mise au point d'une démarche diagnostique à disposition des vétérinaires, ainsi que l'apport d'éléments importants dans l'établissement du pronostic des chiens atteints. L'évolution des animaux intoxiqués, ainsi que la connaissance des mycotoxines trémorigènes au sein de la profession vétérinaire, ont également été décrites dans cette thèse. Enfin la première méthode analytique à disposition des vétérinaires Français, permettant un diagnostic de certitude de cette intoxication, a été présentée.

Mots-clés

Mycotoxines trémorigènes, Intoxication, Diagnostic, Analyse, Chien

Jury

Président du jury : Pr DEVOUASSOUX Gilles

Directeur de thèse : Pr BERNY Philippe

1er assesseur : Pr BERNY Philippe

2ème assesseur : Dr ALVES-DE-OLIVIERA Laurent

Membre invité : Dr QUEFFELEC Stéphane