

UNE NOUVELLE CAUSE DE TROUBLES HÉPATIQUES D'ORIGINE TOXIQUE ?

Labeo, Ph. Pitel, V. Kientz F., Duncombe, 14053 Caen cedex 4

Irish Equine Center, U. Fogarty, Johnstown, Co. Kildare, Irlande

Reverdy Nutrition Équine, C. David, 50520 Juvigny-le-Tertre

RESPE, C. Marcillaud Pitel, 3 rue Mandela, 14280 Saint Contest

Après avoir détecté une anomalie hépatique le plus souvent par dosage des enzymes spécifiques du foie, la détermination de l'origine étiologique est toujours complexe. Le plus souvent, après avoir éliminé les pistes infectieuses (virales, bactériennes ou parasitaires) et métaboliques, la piste alimentaire et donc souvent toxique (toxinique) est régulièrement explorée. Dans ce dernier cas, la problématique est le plus souvent double : méthodologie de prélèvements et aspects analytiques. Ces dernières années, l'arrivée sur le marché de nouvelles technologies analytiques permettent de nouvelles approches en screening et non plus ciblées.

Cette présentation se propose d'exposer la découverte d'une molécule responsable de troubles hépatiques et associée à la présence de fétuque rouge.

I. HISTORIQUE

Dans un centre d'entraînement (E1) certains chevaux présentent des taux d'enzymes hépatiques élevés à partir de 2010. Grâce à une analyse du régime alimentaire et la mise en oeuvre de régimes d'éviction, le foin a pu être incriminé. Des analyses de fourrage ont permis d'écartier l'origine mycotoxinique. Après avoir éliminé de nombreux pieds de séneçons de Jacob ainsi que de gesse des prés et de vesce cultivée sur une partie des prés la problématique est malgré tout réapparue fin 2012.

À cette même période un problème similaire survient dans un élevage important de Normandie notamment sur les yearlings bien que ceux-ci ne présentent aucun symptôme. De nombreuses investigations ont été entreprises pour rechercher des pistes infectieuses et alimentaires sans permettre d'identifier une étiologie précise même si la piste alimentaire est privilégiée.

Début d'été 2013, un inventaire botanique démontre la présence sur de vastes étendues dans H2 d'une herbe gazonnante inhabituelle dans la floristique des haras bas normands. Cette même herbe est retrouvée de façon plus diffuse dans un des prés servant à la production de foin dans E1. Cette herbe est identifiée comme de la fétuque rouge. La famille des fétuques est connue pour héberger des champignons endophytes. Les fétuques comme leurs endophytes peuvent produire différentes toxines notamment des alcaloïdes. Les plus connus sont responsables dans l'espèce équine de troubles de la gestation et de la période néonatale.

II. MÉTHODOLOGIE

Après séchage et broyage les foins et herbes fraîches sont extraits avant injection dans le LC/MS-QTOF. Les sérums sont eux injectés directement. Ce matériel mesure le temps de vol de molécules et à partir de ce temps, en calcule la masse exacte et en déduit la formule brute.

Des comparaisons avec les formules et masses des alcaloïdes du séneçon de Jacob ainsi que des principaux alcaloïdes d'endophytes des fétuques (loline, hordenine...) ont été effectuées.

Des recherches mycologiques ont aussi été entreprises sur les prélèvements de fétuque rouge. La molécule a aussi été recherchée sur les colonies de champignons.

III. RÉSULTATS ET SUIVI DES CAS

Dans nos cas, les analyses par LC/MS-QTOF ont permis d'identifier une molécule de formule $C_{18}H_{28}N_2O_6$. Cette formule correspond à 130 molécules identifiées dans les différentes bases de données mais aucune évoquant une piste potentiellement pathogène. La formule brute pourrait correspondre à une formule d'alcaloïde.

Cette molécule est quasi systématiquement retrouvée dans les prélèvements de fétuque rouge collectées dans les deux structures ainsi que dans le sérum des chevaux ayant pâturé sur des paddocks contaminés par de la fétuque rouge ou dans le foin réalisés sur ces paddocks. $C_{18}H_{28}N_2O_6$ a aussi été identifiée dans du foin acheté chez un négociant pour compléter la production du haras H2.

Des repas témoins à base de fétuque rouge et des régimes d'éviction ont aussi permis de montrer une élévation rapide des enzymes hépatiques (notamment de la GLDH), ainsi que l'apparition (2 à 5 jours) et la disparition rapide de la molécule en cas de retrait de l'aliment contaminé. Des biopsies hépatiques ont été réalisées pour analyse histologique. Aucune lésion profonde et irréversible n'a pu être mise en évidence. Des lots de yearlings test ont aussi été constitués afin d'évaluer tous les paddocks, en même temps qu'un inventaire floristique des prés a été mis en oeuvre.

La plupart des prélèvements de fétuque rouge ont permis l'identification de champignons. Cependant à partir des colonies isolées la molécule n'a pu être identifiée. Cela ne permet pas d'exclure qu'un ou plusieurs de ces champignons soient responsables de la production de la toxine. En effet les conditions de pousse in vitro ne sont en rien comparables aux conditions de terrain (hygrométrie, température, stress...). Il est par ailleurs intéressant de noter que la plupart du temps la molécule devient quasiment indétectable après les premières gelées (à confirmer).

Dans le centre E1 la situation a été gérée par une réorganisation de la production de foin sur les prés en arrangement avec l'agriculteur qui le réalise. Seul du fourrage produit dans des prés sans fétuque est utilisé pour l'alimentation des chevaux.

Dans H2, l'ensemble des animaux a été transféré vers une autre structure à l'étranger. Plusieurs essais de traitement des prés et paddocks ont été entrepris : pâturage par des bovins, des moutons, épandage de bouillie bordelaise. Aucun d'entre eux n'a permis de supprimer la production de molécule et la présence de fétuque. Afin d'éviter un usage massif de désherbant sur le haras, un essai de traitement mécanique -disque, enfouissement puis réensemencement avec des mélanges de graines testées et négatives pour la molécule - est entrepris. Des essais avec le lot de yearlings test sont repris et ont permis de montrer leur efficacité. Le traitement des bordures de paddocks a aussi été entrepris.

En plus de ces deux cas, la molécule incriminée a été retrouvée dans plusieurs structures du Grand Ouest, que ce soit dans des effectifs chez des particuliers comme dans des structures professionnelles. Elle a notamment été détectée dans le fourrage distribué à des animaux d'un centre de pré-entraînement. Ces derniers présentaient des enzymes hépatiques très élevées à leur arrivée dans leur écurie d'entraînement. Il s'est avéré que le foin du site de pré-entraînement provenait d'un fournisseur ayant déjà fourni le Haras 2 et dans lequel la molécule avait été identifiée.

CONCLUSION

Lors de détection de troubles hépatiques collectifs dans un effectif, la recherche de molécule toxique liée à la fétuque rouge doit maintenant faire partie du diagnostic différentiel. Elle pourra venir compléter les recherches d'autres molécules toxiques telles que les alcaloïdes du séneçon de Jacob ou les mycotoxines classiquement recherchées. La normalisation des paramètres hépatiques et notamment de la GLDH est rapide après retrait du fourrage ou de de l'herbe fraîche incriminée. Cette normalisation se confirme par de récents gagnants de groupe issus de chevaux élevés pendant la phase de crise sur le Haras 2.

Les travaux menés notamment sur le Haras 2 montrent que parmi les traitements non chimiques, seuls les traitements mécaniques et un réensemencement des prés avec des semences contrôlées pour la présence d'endophytes dont la molécule inconnue ont permis une élimination de la molécule dans les prés et paddocks (tests biochimiques et lots de yearlings test).