



**CONVENTION DE RECHERCHE
ET DÉVELOPPEMENT (CRD)**

ANSES / CHRU de Nancy / Université Paris Cité

2022-CRD 02

**Etude des substances chimiques contenues dans
Ornithogalum pyrenaicum (ou asperge des bois)
pouvant être à l'origine d'intoxication alimentaire
chez l'Homme**

RAPPORT FINAL

05/12/2024

CHRISTINE TOURNOUD (CENTRE ANTIPOISON EST)

SYLVIE MICHEL (FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS)

SANDRA SINNO-TELLIER (ANSES)

Table des matières

Résumé	4
Liste des abréviations	5
1 Contexte et enjeux.....	6
1.1 Description du signal initial et de son suivi.....	6
1.2 Caractérisation de la plante.....	7
1.2.1 Description botanique des asperges des bois.....	7
1.2.2 Localisation géographique de la plante	8
1.3 Réglementation	9
2 Hypothèses mécanistiques.....	9
3 Objectifs.....	10
4 Matériels et méthodes	11
4.1 Période d'étude	11
4.2 Sources de données des cas	11
4.2.1 Système d'information des Centres antipoison (SICAP).....	11
4.2.2 Formulaire d'enquête spécifique	13
4.3 Analyse des asperges des bois.....	13
4.3.1 Origine des asperges analysées chimiquement	13
4.3.2 Méthodes d'analyse chimique utilisées	14
4.3.3 Appareillages et équipement	15
4.3.4 Caractéristiques recherchées dans chaque méthode	15
4.4 Plan d'analyse des cas	17
5 Résultats.....	18
5.1 Bilan des repas et des cas	18
5.1.1 Répartition par année	18
5.1.2 Répartition mensuelle et saisonnalité.....	18
5.1.3 Répartition géographique des cas d'exposition	18
5.1.4 Répartition par âge et sexe des cas	19
5.1.5 Antécédents des patients exposés.....	19
5.1.6 Description détaillée des symptômes	20
5.1.7 Prise en charge des patients symptomatiques.....	21
5.1.8 Gravité-imputabilité	22
5.1.9 Origine des plantes consommées	23
5.1.10 Identification des plantes consommées	23
5.1.11 Mode de consommation des plantes	23
5.1.12 Notion de consommation antérieure	23

5.2	Résultats d'analyse des plantes.....	24
5.2.1	Echantillons d'asperges non consommées (achat dans le commerce, sur un marché)	24
5.2.2	Analyse d'un lot cas (lot du 8/11/2022)	30
6	Discussion	33
7	Conclusion et perspectives.....	36
8	Bibliographie	37
9	Annexes	39

Résumé

L'asperge des bois ou aspergette ou ornithogale des Pyrénées existe sous un grand nombre de noms latins synonymes dont les plus couramment admis sont, selon les sources botaniques, *Loncomelos pyrenaicus* (L.) Hrouda ou *Loncomelos pyrenaicum* (L.) L.D.Hrouda ou *Ornithogalum pyrenaicum* L. C'est une plante sauvage printanière dont on consomme le bouton floral. Cette plante sauvage peut aussi être cultivée par des particuliers dans les jardins potagers à partir de graines disponibles dans le commerce. Réputée comestible, aucune étude n'a décrit à ce jour de toxicité humaine des asperges des bois. En mai 2019, le CAP de Nancy avait alerté l'Anses sur la survenue d'une intoxication grave mettant en jeu le pronostic vital. Deux heures après un repas d'asperges des bois achetées au marché, un homme avait présenté une sensation de gorge serrée avec difficulté à déglutir, puis un œdème de Quincke associé à une urticaire généralisée, nécessitant une prise en charge hospitalière, d'évolution favorable sous traitement symptomatique. Une étude des appels enregistrés par les CAP de janvier 2010 à juin 2020 a mis en évidence 37 repas d'asperges des bois, regroupant 66 convives, pour lesquels 73% avaient été symptomatiques. Les principaux symptômes (douleurs oropharyngées intenses, sensation de gonflement dans la gorge, difficultés à avaler) survenaient en moyenne 3 heures après la consommation des asperges. Pour mieux documenter les intoxications et rechercher d'éventuels composés toxiques d'asperges des bois, une étude a été réalisée par le CAP de Nancy et le laboratoire de pharmacognosie de la Faculté de pharmacie de Paris avec le soutien financier de l'Anses. Entre 2022 et 2023, 8 intoxications alimentaires collectives par des asperges des bois ont été rapportées aux CAP : 12 personnes avaient rapporté des symptômes, dont 10 des signes oto-rhino-laryngés survenus en moyenne 4 heures après le début du repas. Pour mettre au point les méthodes d'analyse des asperges des bois, trois lots de plantes, non associés à une intoxication, ont été achetés chez un primeur ou sur un marché. L'examen microscopique de la plante a montré la présence d'une grande quantité de mucilages, semblables à un gel, ainsi que la présence abondante de raphides d'oxalate de calcium. L'examen chromatographique a mis en évidence la présence de sucres, d'acides gras et de sitostérol. L'analyse d'un échantillon d'asperges des bois associées à une intoxication ne montrait pas de différence à celle des premiers échantillons. L'hypothèse la plus probable serait que les raphides, constituant de minuscules aiguillons, viendraient s'implanter dans la muqueuse oropharyngée et provoquer une irritation facilitant le passage de substances inflammatoires ou toxiques. La présence de mucilages dans la plante pourrait expliquer la survenue retardée des symptômes après l'ingestion. D'autres recherches sont nécessaires pour identifier les substances actives de la plante à l'origine de cette inflammation, ainsi que pour quantifier la concentration en raphides dans les asperges des bois afin de la comparer à celle de plantes toxiques riches en raphides d'oxalate de calcium. Enfin, l'information du public et des professionnels de santé sur les risques liés à la consommation d'asperges des bois permettrait de prévenir des intoxications et d'améliorer leur signalement.

Liste des abréviations

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
BNCM : Base nationale des cas médicaux
BNPC : Base nationale des produits et compositions
CAP : Centre antipoison
CCM : Chromatographie sur couche mince
CLHP : Chromatographie liquide à haute performance
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
CRD : Convention de recherche et développement
PM : Phase mobile
PS : Phase stationnaire
RMN : Résonance magnétique nucléaire
RTU : Réponse téléphonique à l'urgence
SAC : Service des agents et compositions
SCM : Service des cas médicaux
SICAP : Système d'information des Centres antipoison
SID : Système d'information décisionnel
SM : Spectrométrie de masse

1 Contexte et enjeux

1.1 Description du signal initial et de son suivi

En mai 2019, dans le cadre de la toxicovigilance, les Centres antipoison (CAP) ont signalé à l'Anses la survenue d'intoxications après consommation d'asperges des bois, dont un cas grave qui a mis en jeu le pronostic vital. Il s'agissait d'un homme sans antécédent allergique qui avait consommé des asperges des bois achetées au marché. Deux heures après le repas, il a présenté une sensation de striction dans la gorge avec dysphagie, puis un œdème de Quincke associé à une urticaire généralisée, qui ont nécessité une prise en charge hospitalière et un traitement symptomatique par adrénaline, corticoïdes et antihistaminiques. L'évolution a été favorable avec une régression totale des signes au bout de 5 jours. Il est à noter que son épouse, qui avait également consommé ces asperges pendant le repas, sans antécédent allergique non plus, a présenté le même tableau clinique à minima, dans la même temporalité, élément récurrent dans la problématique des asperges des bois.

Le maraîcher concerné a précisé que les plantes lui étaient fournies par des cueilleurs indépendants, et qu'il les triait et mettait en bottes. Sur une vente d'environ 150 kg/an, environ une personne par an revenait vers lui en lui signalant des douleurs pharyngées plus ou moins importantes. Un autre maraîcher contacté a affirmé qu'il prévenait les personnes venant acheter ces plantes du risque de survenue de symptômes du même type lors de la consommation.

Suite à ce signal, une étude rétrospective des cas enregistrés par les CAP réalisée du 01/01/2010 au 31/06/2020 a mis en évidence 37 dossiers dans le système d'information des CAP (SICAP) correspondant à 66 cas d'exposition dont 48 cas symptomatiques (73%). Le délai de survenue des symptômes était en moyenne de 3 heures. Les symptômes présentés étaient : majoritairement des douleurs oropharyngées intenses (42%), une sensation de gonflement dans la bouche ou la gorge (29%), des difficultés pour avaler (29%). Un œdème buccal a été constaté par un médecin dans 31% des cas. Des troubles digestifs et des douleurs musculaires ont également été rapportés.

Les CAP sont sollicités pour donner un avis et conseil médical dans le cadre de leur mission de soin. En cas d'intoxication alimentaire, des personnes peuvent se rendre aux urgences ou consulter un médecin, se rendre à la pharmacie ou rester au domicile, sans nécessairement appeler un CAP. Ils reçoivent par ailleurs très rarement des déclarations d'effets indésirables. Il est donc très probable que le nombre réel de cas soit sous-estimé, d'autant que la relation avec ces plantes réputées comestibles n'est le plus souvent pas évoquée.

Si cette étude rétrospective permettait de valider le signal, elle comportait cependant un certain nombre de limites : dossiers parfois peu documentés (provenance de ces plantes, quantité ingérée et mode de cuisson), absence d'identification formelle systématique de la plante (photos non disponibles notamment pour les dossiers les plus anciens), consultation médicale non systématique, bilan allergologique non effectué le plus souvent (la fréquence des cas concernant plusieurs membres d'une même famille étant peu évocatrice d'une étiologie allergique). Dans deux cas, le bilan allergologique pratiqué a montré pour l'un une allergie alimentaire, et pour l'autre une allergie aux graminées mais pas à la famille des asperges des bois (*Asparagaceae*).

1.2 Caractérisation de la plante

1.2.1 Description botanique des asperges des bois

L'asperge des bois, qui existe sous un grand nombre de noms latins synonymes dont les plus couramment admis sont, selon les sources botaniques, *Loncomelos pyrenaicus* (L.) Hrouda¹ ou *Loncomelos pyrenaicum* (L.) L.D.Hrouda ou *Ornithogalum pyrenaicum* L., est une plante vivace bulbeuse de la famille des Asparagaceae mesurant de 50 cm à 1 m (Hill et Price 2000). Il s'agit d'une plante sauvage, qui peut aussi être cultivée par des particuliers (graines vendues pour être semées dans les jardins potagers).

Dans son environnement naturel, on la rencontre principalement dans les prairies, les talus, et les bois de presque toute la France métropolitaine dont la Corse. Cette plante est cueillie pour ses épis de boutons floraux qui sont comestibles et se consomment cuits quelques minutes pour conserver leur saveur. Cette plante sauvage comestible est ramassée au printemps et vendue sur les marchés, parfois dans des hypermarchés, entre fin avril et début juin.

De nombreuses espèces d'ornithogales existent, contenant des principes actifs variés, entraînant une toxicité variable. Cependant peu de publications existent sur *Ornithogalum pyrenaicum*. Des anciennes publications sur *Ornithogalum pyrenaicum* (anciennement classée dans les Liliaceae), toutes des mêmes auteurs (Piette et Parvanchere 1960) (Piette et Parvanchere 1961a) (Piette et Parvanchere 1961) (Piette et Parvanchere 1962a) (Piette et Parvanchere 1962b), font état de la présence de phytohémagglutinines présentes dans toute la plante sauf la fleur, pouvant être responsables d'une agglutination érythrocytaire chez l'animal mais sans information sur les tests chez l'Homme.

En 2019, les CAP ont interrogé les experts botanistes de la Phytoliste, qui ont accès à des publications spécialisées, et qui n'avaient pas connaissance d'une toxicité de cette plante (Archer et Archer 1999) (Botha et al. 2000) (Kubo et al. 1992) (Malabed et al. 2017) (Mimaki et al. 1997) (Sobolewska et al. 2020). La Phytoliste comprend des personnels des CAP (médecins ou pharmaciens), des botanistes appartenant à une association ou une société de botanique, des pharmacognostes et a pour objectif d'aider les CAP à l'identification d'un végétal à partir d'un document photographique.



Source : Centre antipoison de Nancy

¹ https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/106546, Inventaire National du patrimoine naturel

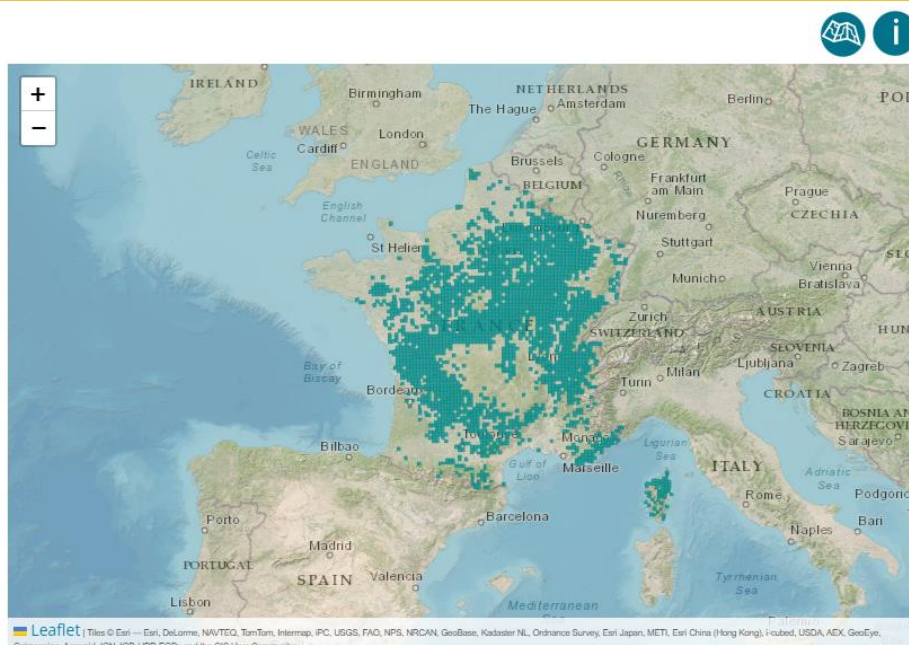


Source : Centre antipoison de Nancy

1.2.2 Localisation géographique de la plante

Loncomelos pyrenaicus est présente dans toutes les régions de France (carte ci-dessous). Historiquement les cas, décrits lors de l'analyse rétrospective réalisée par les CAP et citée ci-dessus, sont majoritairement situés dans le nord-est de la France. Ceci est probablement dû à des habitudes de cueillette et de consommation anciennes. Actuellement la vente de cette plante est largement diffusée sur les marchés, dans certains supermarchés, et il est possible d'acheter des graines pour réaliser une plantation personnelle.

Présence en France (source SINP)



Carte : [Loncomelos pyrenaicus \(L.\) Hrouda, 1988 - Ornithogale des Pyrénées, Loncomélos des Pyrénées, Aspergette, Asperge des bois-Cartes \(mnhn.fr\)](#)

1.3 Réglementation

L'asperge des bois figure sur l'arrêté de 1989 « relatif à la liste des espèces végétales sauvages pouvant faire l'objet d'une réglementation préfectorale permanente ou temporaire », révisé en 2009 (<https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/LEGIARTI000020634809/2009-05-14/>). (N°PRME8961014A 1989)

Elle a par exemple fait l'objet d'une observation dans le Loiret :

<https://cbnb.mnhn.fr/cbnb/dataSourceAction.do?action=dsCom&cdInsee=45279&cdNom=106546>

Cependant les limites règlementaires concernent le ramassage (protection de l'espèce) et non pas la vente de cette plante.

2 Hypothèses mécanistiques

A ce jour, aucune publication scientifique ne fait état de toxicité chez l'Homme. Suite au bilan des cas des CAP, plusieurs hypothèses mécanistiques peuvent être avancées :

- une confusion avec une autre plante de la famille des ornithogales. Cependant l'aspect de la plante est assez caractéristique. Certaines plantes impliquées dans les cas rapportés aux CAP ont fait l'objet d'une confirmation de leur identification par des botanistes de la Phytoliste sur photos ;
- la présence d'une ou de plusieurs toxines méconnues dans la plante, toxine(s) qui seraient thermostables donc probablement pas d'origine protéique (quel que soit le mode de préparation et de cuisson de ces asperges, la survenue de cas symptomatiques était possible, même d'ailleurs avec des asperges congelées au préalable) ;
- le délai d'apparition et la durée des symptômes orienteraient vers une transformation in situ, dans la sphère oro-pharyngée, d'un ou plusieurs composants de la plante (hydrolyse, rôle des amylases ?) ;
- les cas familiaux ne sont pas en faveur d'un mécanisme immuno-allergique ;
- il n'a pas été observé de relation dose-effet à ce jour ;
- un mécanisme de « sensibilisation » peut être évoqué dans certains cas, des consommations antérieures sans symptôme ayant été objectivées chez un même consommateur ;
- la production de certaines substances ou toxines par certaines plantes, ou une concentration plus élevée de celles-ci pouvant être à l'origine des symptômes.

3 Objectifs

Les objectifs des travaux de ce programme de recherche et développement étaient de :

- réaliser un recueil prospectif et un bilan des cas de consommation d'asperge des bois enregistrés par les CAP en documentant précisément les cas à l'aide du formulaire d'enquête joint au dossier et en récupérant des échantillons de plantes ;
- développer des méthodes analytiques pour établir des profils de substances présentes dans la plante, en se basant sur des échantillons commerciaux ;
- étudier les substances chimiquement définies de la plante sur des asperges achetées dans le commerce et sur des asperges à l'origine de cas afin de comparer les résultats.

Les résultats des travaux permettront dans un second temps d'informer le public, de diffuser des recommandations en cas de consommation d'asperges des bois cueillies ou achetées et de prendre des mesures de gestion pouvant aller jusqu'à l'interdiction de vente de ces plantes.

4 Matériels et méthodes

4.1 Période d'étude

Recueil des informations sur les cas et asperges des bois pour les saisons 2022 et 2023.

4.2 Sources de données des cas

4.2.1 Système d'information des Centres antipoison (SICAP)

Le système d'information des CAP (SICAP) est composé du Service des agents et compositions (SAC) permettant la gestion de la base nationale des produits et compositions (BNPC), et du Service des cas médicaux (SCM) permettant la mise à jour de la Base nationale des cas médicaux (BNCM).

Les CAP et l'Anses utilisent les données non nominatives du SICAP pour les besoins de toxicovigilance, interrogeable via un système d'information décisionnel (SID), conformément à l'arrêté du 21 février 2022 relatif au fonctionnement du système d'information des centres antipoison et de toxicovigilance (SICAP).

4.2.1.1 Base des agents

Les agents (mélanges, ingrédients, classes d'agents...) ont été recherchés dans la BNPC, thésaurus des agents ayant motivé une téléconsultation et/ou ceux faisant l'objet d'une obligation réglementaire de déclaration de composition. Il s'agit d'une base de données dynamique, mise à jour en permanence à partir des déclarations réglementaires ou spontanées des industriels et des réponses aux demandes spécifiques des CAP, conformément à l'article R.1340-7 du Code de la santé publique.

Les agents de la BNPC sont référencés dans des classes d'agents déterminées par une hiérarchie principale d'usage, ainsi que des hiérarchies secondaires.

4.2.1.2 Base des cas

Les cas sont issus de la BNCM, qui comprend les données à caractère personnel recueillies et enregistrées par les CAP dans le cadre de leur mission de réponse téléphonique à l'urgence (RTU), dans le respect de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 modifiée relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés et du règlement (UE) n2016/679 du 26 avril 2018 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, et conformément à l'arrêté du 21 février 2022 relatif au fonctionnement du SICAP.

Le cas échéant, des cas peuvent également être « hors RTU ». Il s'agit de cas notifiés aux CAP sans qu'ils ne soient contactés pour une téléconsultation médicale, cas recherchés spécifiquement dans les dossiers d'hospitalisation de façon proactive, ou cas signalés via le portail des signalements.

4.2.1.3 Sélection des agents

Les agents pouvant être utilisés pour coder des expositions à des asperges des bois font partie du nœud « PLANTES>>PLANTES SAUVAGES » de la BNPC et correspondent à :

- L'agent « ASPERGE DES BOIS »
- Avec plusieurs alias : « aspergette » ou « Loncomelos pyrenaicus » ou « ornithogale des pyrénées » correspondant au codage spécifique de cette plante et de ses différentes appellations

Pour l'analyse des cas 2022-2023, les cas codés sur l'agent « asperges » et « asperges sauvages » ont été également relus pour vérifier l'absence d'autres cas concernant l'étude.

4.2.1.4 Définition des cas d'intérêt

Tous les cas d'exposition associés à un ou plusieurs des agents sélectionnés ci-dessus pendant la période d'étude ont été extraits du SICAP.

Ont été inclus :

- Cas d'exposition asymptomatiques et symptomatiques
- Cas RTU
- Imputabilité non nulle
- Voie d'exposition orale (ingestion)
- Exposition dans un contexte alimentaire

Ont été exclus :

- Les demandes d'informations (pas de consommation d'asperge des bois)
- Les cas correspondants à une exposition à un autre agent après relecture
- Exposition dans un autre contexte que celui alimentaire

4.2.1.5 Définition d'un cas et d'un dossier ou repas

Cas : toute personne ayant consommé un repas d'asperges des bois pendant la période d'étude. La personne qui a consommé la plante a indiqué qu'il s'agissait d'asperge des bois (plante cueillie par la personne elle-même ou par un tiers) OU la personne a déclaré avoir acheté des asperges des bois.

Dossier ou repas : une seule personne ou plusieurs personnes ayant consommé un **même repas** d'asperges des bois pendant la période d'étude.

4.2.1.6 Identification de la plante

- Photographie envoyée au CAP si disponible
- Identification de la plante sur la photo par le toxicologue du CAP ou par la Phytoliste²

² Phytoliste : liste de diffusion par mail sécurisé mettant en relation les toxicologues des CAP avec un réseau de botanistes confirmés permettant d'identifier rapidement l'espèce de plante sauvage ou cultivée à l'origine de l'intoxication (à partir de photographies, description de la plante...).

4.2.2 Formulaire d'enquête spécifique

Recueil prospectif permettant de réaliser le bilan des cas de consommation d'asperges des bois enregistrés par les Centres antipoison pendant les saisons 2022 et 2023, en lien avec le Groupe de travail Vigilance des Toxines naturelles de l'Anses.

- Un formulaire d'enquête (annexe 1), a été spécifiquement mis en place pour documenter les cas et joint au dossier de saisie des cas SICAP : lieu d'achat, mode de préparation (temps de cuisson...).
- La fiche de recueil de données des CAP indique aux toxicologues des CAP sollicités pour donner avis et conseil au décours d'ingestion symptomatique d'asperges des bois de demander aux personnes intoxiquées de conserver les asperges incriminées (mise sans délai dans un sac plastique et congélation immédiate (-18°C)) dans l'attente d'un retour vers eux pour la récupération des plantes congelées à des fins d'analyse.

4.3 Analyse des asperges des bois

Les travaux ont été conduits par une stagiaire de Master 2, madame Imène AYADEN, recrutée en février 2023 et ont par ailleurs fait l'objet du stage de recherche de cette étudiante.

4.3.1 Origine des asperges analysées chimiquement

4.3.1.1 Non associées à des cas (achat dans le commerce)

Pour mettre au point les méthodes analytiques pour établir des profils de substances présentes dans la plante, trois lots commerciaux non associés à des cas ont fait l'objet de l'étude phytochimique (Figure 1) :

- Lot 1 (350 g) achat le 22/05/2022 primeur Rue Montorgueil, Paris (75002) ;
- Lot 2 (395 g) acheté le 05/05/2023 à « Forum Primeur », Rue Delambre, Paris, Lot de cueillette, provenant de la zone artisanale du Breuil, Rte d'Avrecourt, Val-de-Meuse (52140) ;
- Lot 3 (920 g) acheté le 07/05/2023 au Marché de Port Royal, Paris, Lot de cueillette récolté par « Extracepes », Rue de St Germain, Saint Alyre d'Arlanc (63220).



Figure 1 : trois lots commerciaux analysés

4.3.1.2 Lots associés à des cas

Par ailleurs, trois lots du 8/11/2022, du 5/01/2023 et du 20/06/2023 associés à des cas pour lesquels au moins un des convives du repas a présenté des symptômes ont été envoyés par l'intermédiaire du CAP de Nancy afin de procéder à une analyse ultérieure, une fois l'étude phytochimique réalisée. Pour tous les lots, l'identité de la plante a été confirmée par l'examen de ses caractéristiques morphologiques.

Parmi ces lots, 1 lot analysé : 1 lot "plante cas" arrivé au laboratoire le 8/11/2022.

4.3.2 Méthodes d'analyse chimique utilisées

Diverses techniques chromatographiques complémentaires telles que la CCM (chromatographie sur couche mince), la CLHP (chromatographie liquide à haute performance) et la CPG (chromatographie en phase gazeuse) ont été utilisées. Chacune de ces méthodes présentant des avantages et des limites d'utilisation en fonction de la nature des substances renfermées et de la complexité de la composition de la plante.

4.3.2.1 La chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de chromatographie planaire dont la phase mobile est liquide. Elle est couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative).

Elle comprend une phase stationnaire (PS) : couche mince de matériel adsorbant (gel de silice, cellulose...), ainsi qu'une phase liquide, dite phase mobile ou éluant (PM) : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à se séparer le long de la phase stationnaire. Au cours d'une CCM, les différents composés d'un mélange sont séparés les uns des autres suivant un phénomène d'adsorption le plus souvent pour les phases stationnaires polaires, ou de partage dans le cas des phases inverses ou hydrophobes. La migration des espèces chimiques peut être caractérisée par un R_f ou « Rapport frontal », qui est le facteur de rétention d'un composé. C'est le rapport de la distance ligne de dépôt-composé sur la distance ligne de dépôt-front de solvant. Il est compris entre 0 et 1, et est caractéristique du composé, du support de la plaque et du système d'éluants.

4.3.2.2 La chromatographie liquide haute performance

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est une technique de séparation des plus couramment utilisées dans les analyses chimiques, elle permet l'analyse simultanée de plusieurs composés, même avec des propriétés chimiques variables, y compris les composés thermiquement labiles, polaires et non volatils.

La technique de détection la plus courante en CLHP est la spectrophotométrie avec des détecteurs UV/VIS. Cette détection est basée sur la mesure de l'intensité d'absorption de la lumière ultraviolette (UV) ou visible (VIS) aux longueurs d'onde de 190-800 nm par des molécules présentant des groupements chromophores, c'est-à-dire des molécules qui absorbent la lumière visible ou ultraviolette. La concentration de l'analyte dans l'échantillon peut de ce fait être déterminée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde spécifiée et en appliquant la loi de Beer-Lambert. Les avantages des détecteurs UV/VIS incluent leur simplicité d'utilisation, leur sensibilité modérée et leur robustesse. Cependant, des problèmes peuvent concerner la sélectivité.

Le couplage de la CLHP à la spectrométrie de masse a permis la généralisation des méthodes CLHP, La puissance de cette association réside dans le fait qu'elle augmente la spécificité de l'identification des analytes cibles et permet une détermination hautement sensible des traces.

4.3.2.3 La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) est une technique couramment utilisée en phytochimie pour séparer les composés d'un échantillon. Dans cette méthode, les composés sont entraînés par un gaz vecteur à travers une colonne de séparation. Un détecteur de spectrométrie de masse est utilisé pour ioniser, fragmenter et accélérer les composés séparés,

permettant ainsi de les analyser selon leur rapport masse/charge et de générer un spectre d'ions.

La CPG offre une séparation de haute résolution et des temps de rétention reproductibles d'une analyse à l'autre. L'identification des composés peut être facilitée par l'utilisation de bibliothèques spectrales et la comparaison avec des références existantes. De plus, l'analyse spectrale permet d'obtenir des informations sur les composés non identifiés. Il convient de noter que la CPG-SM présente certaines limitations. Elle est moins adaptée à l'analyse de composés thermolabiles, ainsi que de composés de masse élevée ou très polaires, en raison des limites de température de l'appareillage et de la volatilité intrinsèque de ces composés.

4.3.2.4 Méthodes de caractérisation

De nos jours, l'élucidation de la structure des produits naturels se base surtout sur des méthodes physiques. La spectrométrie de masse (SM) et de résonance magnétique nucléaire (RMN), entre autres, sont des méthodes qui ont joué un rôle significatif dans les développements de méthodes d'analyse et d'identification de nouveaux composés d'origine végétale. De nombreux problèmes d'élucidation de structure peuvent maintenant être résolus en utilisant des techniques couplées comme la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

4.3.3 Appareillages et équipement

Les plantes surgelées ont été soumises à une lyophilisation - Lyophilisateur CHRIST Alpha 1-2 LSC Basic. Elles ont été ensuite broyées à l'aide d'un Broyeur Fritsch® pulverisette 14.

Les solutions ont été évaporées à l'aide d'évaporateurs rotatifs BUCHI heating bath V-800. Les extractions ont été réalisées avec des agitateurs magnétiques chauffants IKA® RCT Basic.

Balances analytiques Mettler Toledo® XS204.

Analyses :

- Plaques de CCM Merck® Gel de silice 60 F₂₅₄
- Solvants CARLOERBA® de qualité analytique LC/MS
- Microscope optique OPTIKA® B-190
- CLUHP ThermoFischer® UltiMate 3000
- UHPLC-System couplée à un détecteur DAD, Logiciel d'exploitation : Chromeleon 7, Colonne Accucore C18 [100 mm, 2,1 mm, 2,6 µm]
- CLHP AGILENT® HPLC Series 1100, Couplé à un détecteur DAD
- Spectromètre de masse à triple quadripôle SCIEX® AI3200 Series
- Logiciel d'exploitation des données : Analyst 1.6.3, Colonne Accucore C18 [100 mm, 2,1 mm, 2,6 µm]
- CPG/SM Shimadzu® QP2010SE
- Spectromètre RMN BRUKER® Avance 400 MHz

4.3.4 Caractéristiques recherchées dans chaque méthode

Etant donné la teneur élevée de cette plante en eau (89%), nos analyses ont été précédées par une étape de lyophilisation des parties aériennes de la plante congelée, puis d'un broyage pour obtenir une poudre fine.

4.3.4.1 Examen macroscopique et microscopique

Ces examens ont été réalisés sur la poudre végétale obtenue par lyophilisation afin de réaliser des examens macroscopiques permettant l'observation et microscopiques qui permet de mettre en évidence des éléments caractéristiques.

4.3.4.2 Etude phytochimique

Pratiquée sur des extraits. Le choix du solvant d'extraction conditionne la composition de l'extrait. Des extractions de la drogue végétale lyophilisée par des solvants de polarités différentes ont été réalisées et ont conduit à des pourcentages de matières extraites très différents : 38 % dans le méthanol, 2,42 % dans le dichlorométhane et 3 % dans l'acétate d'éthyle. La plante est donc riche en substances polaires.

Des chromatographies couche mince ont été réalisées permettant de visualiser les composés présents et permettent de comparer la composition des extraits.

Une méthode de screening, détaillée dans l'ouvrage « Plant Drug Analysis, a thin layer chromatography atlas » (Hildebert Wagner, Sabine Bladt 1996), a été suivie, en s'appuyant sur les données chimiotaxonomiques de la plante, pour pouvoir rechercher la présence de différentes familles de substances, comme les flavonoïdes, les saponosides, les cardénolides ainsi que les principes amers. Ces essais sont en faveur de la présence de glycosides cardiotoniques et de flavonoïdes.

Afin d'isoler des composés purs, la « Flash » chromatographie, permettant des séparations de mélanges complexes est utilisée. Cette technique consiste à appliquer une pression positive sur le solvant permettant d'accélérer la phase mobile, la séparation devient alors plus rapide.

4.3.4.3 Etablissement de profils métabolomiques par CLHP/SM

Des conditions ont été mises au point pour séparer et identifier les composants de la plante par chromatographie liquide à ultra-haute performance (CLUHP). Malgré la présence de nombreux composés chimiques dans la plante, comme observé en chromatographie sur couche mince (CCM), peu de ces composés absorbent en UV. Par conséquent, l'analyse en CLHP/UV s'avère peu pertinente pour l'identification des constituants de l'extrait brut et une analyse CLHP/SM a été retenue.

Cette méthode permet d'établir une empreinte métabolomique de la plante et sera donc utilisée comme référence pour la comparaison de nos échantillons suspectés dans les cas d'intoxication.

4.3.4.4 Etablissement de profils métabolomiques par CPG/SM

La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) est une technique couramment utilisée en phytochimie pour séparer les composés d'un échantillon. Dans cette méthode, les composés sont entraînés par un gaz vecteur à travers une colonne de séparation. Un détecteur de spectrométrie de masse est utilisé pour ioniser, fragmenter et accélérer les composés séparés, permettant ainsi de les analyser selon leur rapport masse/charge et de générer un spectre d'ions.

La CPG offre une séparation de haute résolution et des temps de rétention reproductibles d'une analyse à l'autre. L'identification des composés peut être facilitée par l'utilisation de bibliothèques spectrales et la comparaison avec des références existantes. De plus, l'analyse spectrale permet d'obtenir des informations sur les composés non identifiés. Il convient de

noter que la CPG-SM présente certaines limitations. Elle est moins adaptée à l'analyse de composés thermolabiles, ainsi que de composés de masse élevée ou très polaires, en raison des limites de température de l'appareillage et de la volatilité intrinsèque de ces composés.

4.4 Plan d'analyse des cas

Les informations en lien avec les personnes (âge, sexe, symptômes ; gravité...) ont été analysées par cas alors que les paramètres en lien avec les asperges des bois (origine, mode de consommation...) ont été analysés par repas et par cas.

Description par repas et cas

- Répartition par année
- Répartition mensuelle et saisonnalité
- Répartition géographique des lieux d'exposition
- Répartition géographique des lieux de cueillette
- Origine des plantes consommées
- Identification des plantes consommées

Description par cas

- Répartition par âge et sexe
- Antécédents des patients exposés
- Description détaillée des symptômes
 - o Délai de survenue
 - o Intensité des symptômes
 - o Durée des symptômes
- Prise en charge des patients symptomatiques
- Gravité par cas
- Mode de consommation des plantes
- Notion de consommation antérieure

5 Résultats

5.1 Bilan des repas et des cas

Au total durant la période d'étude 2022-2023, 8 dossiers (repas), de 2 à 5 personnes par repas, regroupant au total 20 cas d'exposition dont 12 symptomatiques ont été colligés.

5.1.1 Répartition par année

Le nombre de repas, de cas d'exposition et de cas symptomatiques se répartissait comme indiqué dans le tableau I.

Tableau I : nombre de repas et cas par année

Année	Nbre de repas	Nbre de cas	Nbre de cas symptomatiques
2022	5	11	7
2023	3	9	5

5.1.2 Répartition mensuelle et saisonnalité

La consommation d'ornithogales des Pyrénées est saisonnière puisque c'est le bouton floral qui est consommé, généralement entre fin avril et début juin. Dans notre étude, un repas (2 personnes) a eu lieu en avril 2022, les 7 autres repas sont survenus au mois de mai.

5.1.3 Répartition géographique des cas d'exposition

Lieux de repas :

La carte ci-dessous (Figure 2) indique la répartition des dossiers (repas) en fonction des départements. Les huit repas ont eu lieu dans 8 départements différents. Majoritairement les repas étaient survenus dans le nord-est de la France.



Figure 2 : départements des lieux de repas

Lieux de cueillette :

Comme précédemment la cueillette a, très majoritairement, été effectuée dans le nord-est de la France, c'est-à-dire dans 6 dossiers sur 8, un repas après cueillette locale était survenu dans un département de Nouvelle Aquitaine (17). A noter que le lieu de cueillette n'était pas connu pour un repas survenu dans le 70 (2 personnes concernées) ou les asperges avaient été données par un client de leur bar-tabac.

5.1.4 Répartition par âge et sexe des cas

Le sex-ratio des patients était égal à 1 : dans 6 dossiers sur 8 il s'agissait de repas partagé par deux conjoints. Les deux autres dossiers comportaient respectivement 3 et 5 personnes, un couple avec des amis ou de la famille.

L'âge des personnes exposées était compris entre 35 et 72 ans: âge moyen (54 ans), âge médian (55 ans).

5.1.5 Antécédents des patients exposés

La moyenne d'âge des personnes ayant consommé ces plantes étant élevée (âge médian 55 ans), plusieurs personnes avaient des antécédents cardiovasculaires (hypertension artérielle, artériopathie), métaboliques (diabète, hyperlipidémie).

Quatre personnes avaient des antécédents d'allergie médicamenteuse ou au pollen mais aucune d'allergie alimentaire.

5.1.6 Description détaillée des symptômes

- Délai de survenue :

Chez les 12 personnes symptomatiques (60 % des consommateurs), le délai de survenue des effets ressentis s'étalait entre 15 minutes (1 cas) et 6 heures (1 cas) et était en moyenne de 4 heures. Le détail des cas est indiqué dans le tableau II ci-dessous :

Tableau II : délai de survenue des symptômes

Délai de survenue des symptômes (heure)	nombre de cas
0,25	1
1	2
1,5	3
3	1
4	4
6	1

- Intensité des symptômes

Dans 9 cas sur 12, les personnes décrivaient une douleur oropharyngée intense avec une dysphagie importante classant ses intoxications en cas de gravité moyenne. Parmi ceux-ci, dans un cas le tableau clinique évoquait un œdème de Quincke.

- Durée des symptômes

Les symptômes ont duré entre 30 mn et 5 jours selon le cas : le descriptif détaillé de la durée des symptômes est réalisé dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III : durée des symptômes

Durée des symptômes (heure/jour)	nombre de cas
0,5 h	1
6 h	2
24 h	3
2 j	2
3 j	2
5 j	1
nsp	1

- Description détaillée :

Les symptômes présentés par les patients sont listés dans le tableau IV ci-dessous (un seul patient pouvant avoir plusieurs symptômes) :

Tableau IV : description des symptômes

Description détaillée des symptômes	nombre de personnes
Symptômes ORL	10
dysphagie intense	9
sensation d'œdème pharyngé	6
douleur oropharyngée	5
sensation d'œdème buccal	3
douleur auriculaire	2
dysphonie	2
œdème Quincke	1
œdème des lèvres et de la langue	1
hypersialorrhée	1
gêne à l'élocution	1
Symptômes digestifs	3
diarrhée	2
nausée	1
vomissement	1
douleur épigastrique	1
douleur abdominale	1
Symptômes respiratoires	1
dyspnée	1
Symptômes cutanés	2
érythème fugace du visage	1
érythème du visage ayant duré 24 h	1
Autre symptôme	1
hyperthermie à 38°C	1

Quelques remarques :

- Si plusieurs personnes décrivaient une sensation d'œdème buccal ou pharyngé, un seul cas d'œdème buccal a été objectivé chez les personnes qui ont consulté, le cas d'œdème de Quincke. Une autre personne, qui s'est traitée en automédication et est restée à domicile, décrivait bien un « signe du dentier » c'est-à-dire de très grandes difficultés à enlever son dentier lorsque les symptômes sont apparus après la consommation d'asperges, ainsi que secondairement l'impossibilité à le remettre, signant à priori l'existence d'un œdème buccal.

5.1.7 Prise en charge des patients symptomatiques

Parmi les patients symptomatiques, 4 personnes ont consulté leur médecin généraliste et 4 personnes ont consulté aux urgences de proximité. Le tableau V ci-dessous récapitule les modalités de prise en charge des patients et le traitement réalisé. L'évolution a été favorable chez tous les patients.

Tableau V : prise en charge des patients symptomatiques

Prise en charge	Nombre de patients
Surveillance à domicile	4
Consultation médecin traitant	4
Consultation aux urgences	4
aucun traitement	2
antalgiques	4
corticoides	5
antihistaminiques	9
oxygénothérapie normobare	1
aérosol terbutaline	1
aérosol adrénaline	1

Lors du suivi des cas par les CAP, aucune personne n'avait fait de bilan allergologique dans les suites de leur appel, probablement car la probable relation avec la consommation des asperges avait été établie par les répondants.

5.1.8 Gravité-imputabilité

En ce qui concerne les 12 patients symptomatiques, les symptômes étaient souvent décrits comme intenses et très gênants.

Selon le Poison Severity Score (Persson et al. 1998), les cas ont été classés selon la gravité des symptômes : dans la série, 4 cas étaient classés en PSS1 et 8 en PSS2.

Il est à noter que tous les cas symptomatiques ont été classés en imputabilité non exclue (I1). En effet l'imputabilité en toxicovigilance repose sur l'imputabilité du tableau clinique par rapport à l'agent d'exposition (méthode d'imputabilité en toxicovigilance, version 7.6³), basée sur :

- Les caractéristiques de l'exposition
- L'existence ou non d'une symptomatologie
- La chronologie de survenue des symptômes
- L'existence d'éléments objectifs de caractérisation causale (test, dosage, autre cause...)
- La recherche ou non de diagnostics différentiels
- L'existence ou non de données bibliographiques

Cette classification permet de classer les dossiers en imputabilité non applicable (Ii), imputabilité nulle (I0), imputabilité non exclue (I1), imputabilité possible (I2), imputabilité probable (I3) et imputabilité très probable (I4).

Dans notre étude, l'absence de publications concernant une possible toxicité des asperges des bois chez l'homme, a fait classer tous les cas en imputabilité non exclue.

³ Un calculateur de l'imputabilité est mis à disposition à l'adresse <https://centres-antipoison.net/extranet> (#136Poison)

5.1.9 Origine des plantes consommées

Dans 6 repas sur 8 (correspondant à 16 personnes consommatrices), les asperges des bois provenaient d'une cueillette : personnelle (7 cas), ou faite par un tiers ami (3 cas) ou famille (4 cas), ou par une personne non connue (2 cas). Pour 2 repas, les asperges avaient été achetées sur des marchés : la provenance en était dans un cas le maraicher lui-même (2 personnes consommatrices) et dans l'autre un grossiste sans plus d'information sur la provenance des plantes (2 personnes).

5.1.10 Identification des plantes consommées

L'aspect macroscopique des asperges des bois est très caractéristique : cependant lors de l'appel au CAP une photo des plantes n'était pas toujours disponible le plus souvent parce toutes les plantes avaient été consommées. Dans 4 dossiers, une photo était disponible et les plantes ont pu être identifiées par un toxicologue du CAP dans 2 dossiers ou par les botanistes de la Phytoliste dans les 2 autres.

5.1.11 Mode de consommation des plantes

Les asperges ont été consommées fraîches c'est-à-dire non congelées. En dehors d'un cas où les plantes ont été conservées pendant 3 jours dans le frigidaire avant consommation, dans les autres cas les asperges avaient séjourné uniquement quelques heures au plus ou pas du tout dans le frigidaire.

La quantité de plantes consommée était un peu difficile à déterminer notamment en poids. En quantité les personnes avaient consommé entre ½ asperge et 30 asperges.

Le mode de cuisson était le suivant :

- Entre 7 et 15 minutes dans l'eau bouillante pour 11 cas
- 20 minutes à la vapeur pour 5 cas
- Revenues à la poêle, avec un temps de cuisson estimé à moins de 10 minutes pour 2 cas
- L'information n'a pas été récupérée dans 2 cas

5.1.12 Notion de consommation antérieure

13 personnes sur 20 avaient consommé des asperges des bois auparavant, certaines depuis de nombreuses années, parfois cueillies au même endroit que pendant la période d'étude. Parmi ces consommateurs, une seule personne signale la survenue de symptômes oto-rhino-laryngés similaires à ceux motivant l'appel en 2022 lors de la consommation l'année précédente (sa conjointe étant restée asymptomatique). Cinq personnes n'en avait pas consommé auparavant. Pour 2 personnes, cette notion était inconnue.

Un tableau de synthèse des cas d'exposition est présenté en annexe 2.

5.2 Résultats d'analyse des plantes

5.2.1 Echantillons d'asperges non consommées (achat dans le commerce, sur un marché)

Trois échantillons ont été analysés.

A. Examen macroscopique

Lorsque la poudre est hydratée, celle-ci présente une texture visqueuse, évoquant la présence de mucilage. L'obtention d'un précipité floconneux après l'introduction d'alcool absolu, et l'utilisation du test de gonflement de la Pharmacopée Européenne 10.0 (annexe 3) suggèrent également qu'il s'agit d'une plante très riche en mucilages (SI \approx 14) (Figure 3)

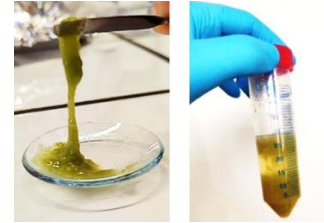


Figure 3

B. Examen microscopique

L'examen microscopique permet de mettre en évidence des éléments caractéristiques.

L'examen microscopique a permis de confirmer la présence de mucilages, qui se colorent en pourpre avec le Ruthénium Red (Figure 4) (selon Ph. Eur. 10.0).

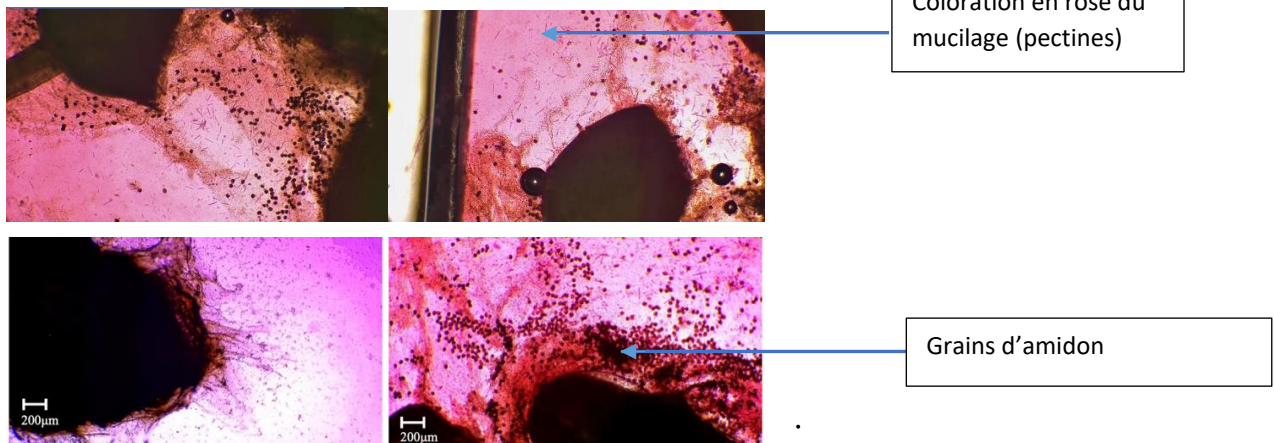


Figure 4 : Mucilages observés sous microscope optique (Coloration au Ruthénium Red)

Cet examen a également mis en évidence la grande richesse de cette plante en raphides d'oxalate de calcium. Elles sont observables (Figure 5) sous formes d'aiguilles réfringentes d'une taille de l'ordre de 100 μ m.

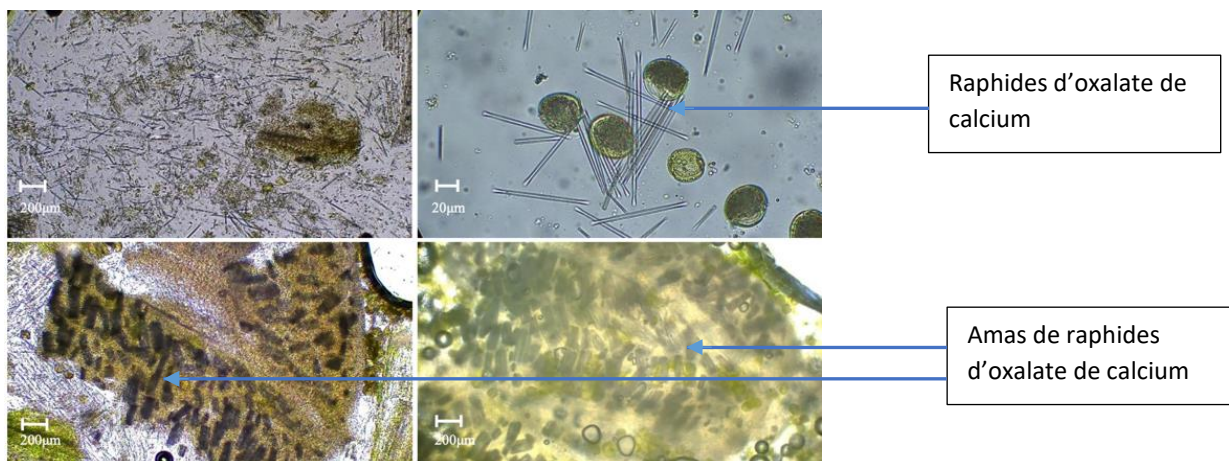


Figure 5 : Examen des raphides sous microscope

L'oxalate de calcium est stocké dans les tissus végétaux. L'aspect morphologique des cristaux formés est variable et peut être un élément de caractérisation de certaines espèces végétales. La forme cristalline observée ici est celle de raphides ou fines aiguilles. Ces cristaux peuvent représenter un risque pour la santé humaine et animale s'ils sont ingérés car ils provoquent des irritations et des brûlures au niveau de la bouche et du système digestif de l'organisme. Il est souvent admis qu'ils permettent de fournir une protection contre les herbivores. La présence de ces raphides dans certaines familles botaniques comme celle des *Araceae* est bien connue pour les effets nocifs générés.

C. Etude phytochimique

Comparé à une extraction à température ambiante par macération dans du méthanol pendant 24h, un meilleur rendement a été obtenu avec une extraction par chauffage à 45°C, méthode qui a été adoptée pour la suite de l'étude, puisque la plante est consommée cuite.

Les extraits sont préparés à partir de 5 g de poudre de drogue végétale lyophilisée dans 50 mL de solvants, l'extraction est répétée 3 fois.

D. Analyse des extraits par CCM

L'extraction a été réalisée dans des solvants de polarité différentes et a donné les rendements suivants : 38% dans le méthanol, 2.42% dans le dichlorométhane et 3% dans l'acétate d'éthyle, bien que les profils chromatographiques sur CCM soient relativement similaires (Figure 6), ce qui est indicatif de la richesse de cette plante en composés polaires non détectés en UV comme des sucres.

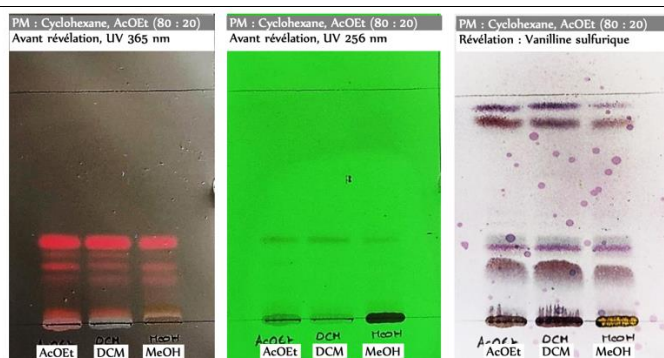


Figure 6 : CCMs des trois différents extraits bruts

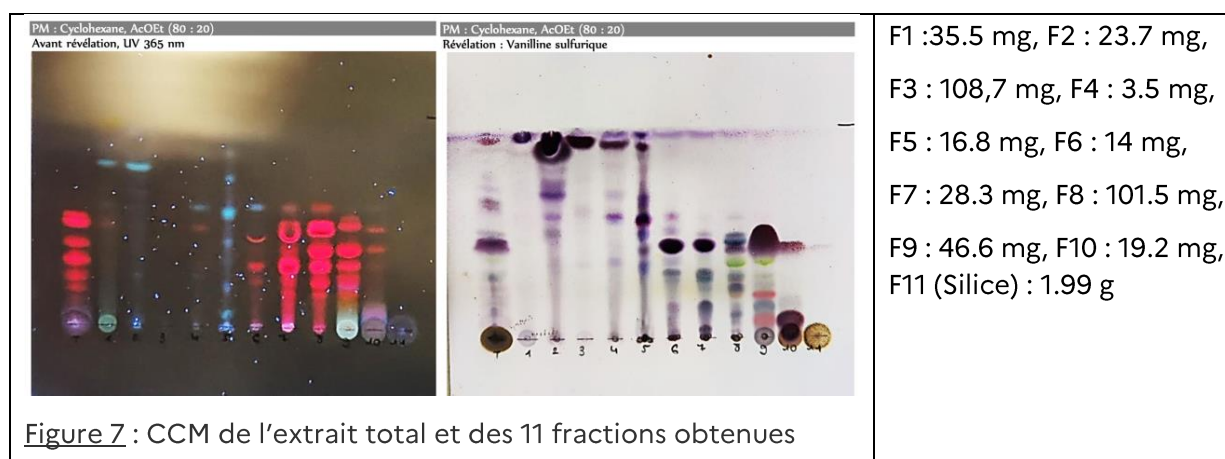
Par ailleurs, l'extraction par de l'alcool additionné d'eau (70:30) donnait un extrait très visqueux et difficile à filtrer et à exploiter, ce qui est en accord avec la richesse de la plante en mucilages.

Un screening par CCM ayant pour but la mise en évidence les principaux groupes de métabolites comme les flavonoïdes, les saponosides, les cardénolides, a été réalisé, en

s'appuyant sur les données chimiotaxonomiques de la plante (Hildebert Wagner, Sabine Bladt 1996). Ces essais sont en faveur de la présence de glycosides cardiotoniques et de flavonoïdes.

E. Purification de l'extrait brut méthanolique

Une séparation sur colonne de silice « Flash » a été menée sur 3.45 g d'extrait brut méthanolique, un gradient de solvants a été utilisé (mélange Cyclohexane + AcOEt aux proportions 98:2 jusqu'à 0:100, suivi d'un lavage au mélange AcOEt + Méthanol de 95:5 jusqu'à 70:30), 11 fractions ont pu être séparées, le poids des 10 premières fractions (dépourvues de silice) étant de 0,4 g, ce qui est encore indicatif de la teneur élevée en sucres et en composés polaires fortement adsorbés sur la silice (Figure 7).



Les fractions obtenues ont été soumises à une analyse par RMN, qui a suggéré que les fractions les plus apolaires (1, 2, 3, 4 et 5) étaient majoritairement constituées d'acides gras. Afin d'approfondir cette observation, nous avons opté pour une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Par ailleurs, les spectres RMN des fractions 6 et 7 évoquent une abondance de composés terpéniques, parmi lesquels un constituant semblait prédominant selon l'observation en CCM. Enfin, les fractions restantes ont suggéré la présence de sucres, qui ont été soumis à une analyse par CPG/SM après une étape de dérivatisation.

Isolément d'un composé chimiquement défini et caractérisation d'une fraction

La fraction F6 semblant contenir un composé majoritaire, évoquant en RMN la structure d'un terpène.

Il a été tenté un processus de cristallisation directement sans purification ultérieure. Après dissolution dans du méthanol à chaud, les cristaux sont obtenus par refroidissement. (Figure 8). Leur analyse par RMN, 1D et 2D permettent d'identifier ce terpène, en s'appuyant sur les données de la littérature et de travaux précédemment réalisés dessus au laboratoire (Satiraphan et al. 2012).



Figure 8

Le spectre RMN du carbone-13 montre la présence de 29 signaux de carbone, en faveur d'une structure triterpénique. Le spectre RMN 1H (Figure 11) confirme la structure du β -sitostérol (Figure 9) en accord avec le spectre HSQC édité (Ex : carbone méthine à 71,8 ppm, corrélé à dH-3 3,58, carbone d'oléfine à dC-6 121,7 ppm corrélé à dH-6 5,40) (Figure 12).

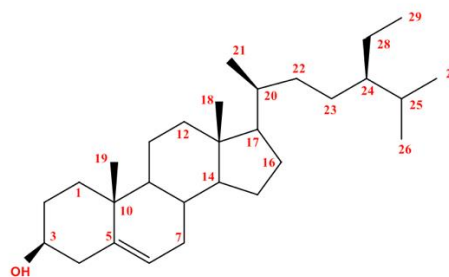


Figure 9 : Structure du β -sitostérol

Ce résultat est confirmé par le spectre ESI-SM ($[M+H]^+$ $m/z = 415$, $[M+Na]^+$ $m/z = 437$, $[M+2Na]^+$ $m/z = 460$), ainsi que par le spectre UV ci-dessous (Figure 10) :

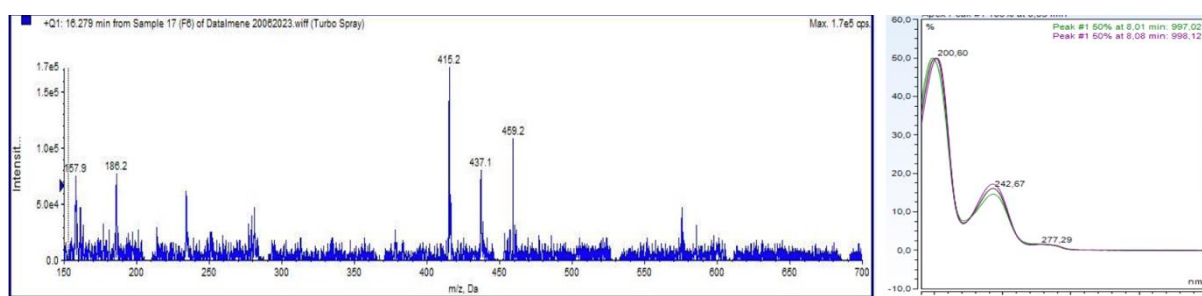


Figure 10 : Spectre de masse et spectre UV obtenu par analyse en CLHP/SM et CLUHP/UV de la fraction 6

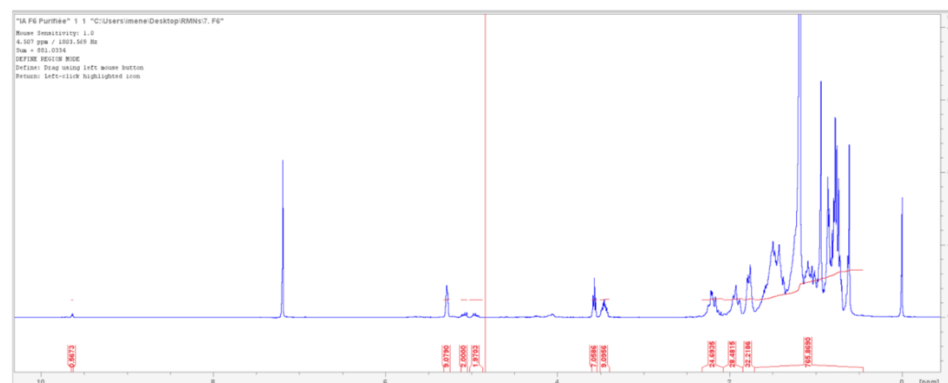


Figure 11 : Spectre RMN 1-H de la fraction F6 recristallisée

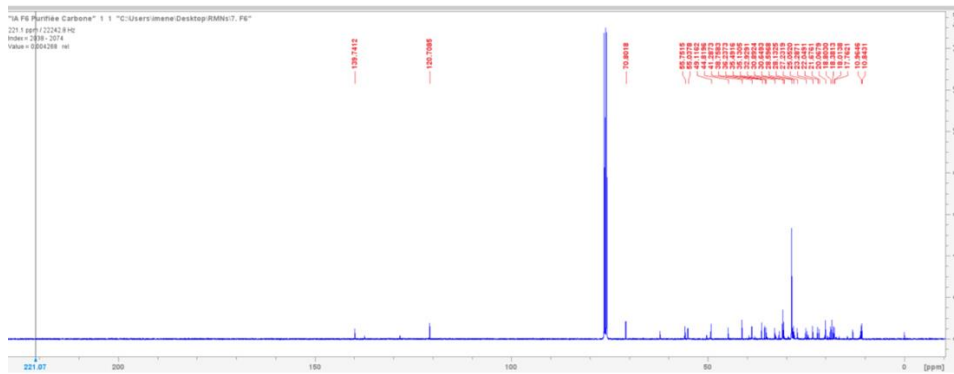


Figure 12 : Spectre carbone-13 de la fraction F6 recristallisée

F. Analyse de l'extrait brut par chromatographies couplées

Etablissement de profils métabolomiques par CLHP/SM

Une méthode chromatographique a été mise au point pour séparer et identifier les composants de la plante par chromatographie liquide à ultra-haute performance (CLUHP). Malgré la présence de nombreux composés chimiques dans la plante, comme observé en chromatographie sur couche mince (CCM), peu de ces composés absorbent en UV. Par conséquent, l'analyse en CLHP/UV s'avère peu pertinente pour l'identification des constituants de l'extrait brut, bien qu'elle soit utile pour leur séparation (Figure 13).

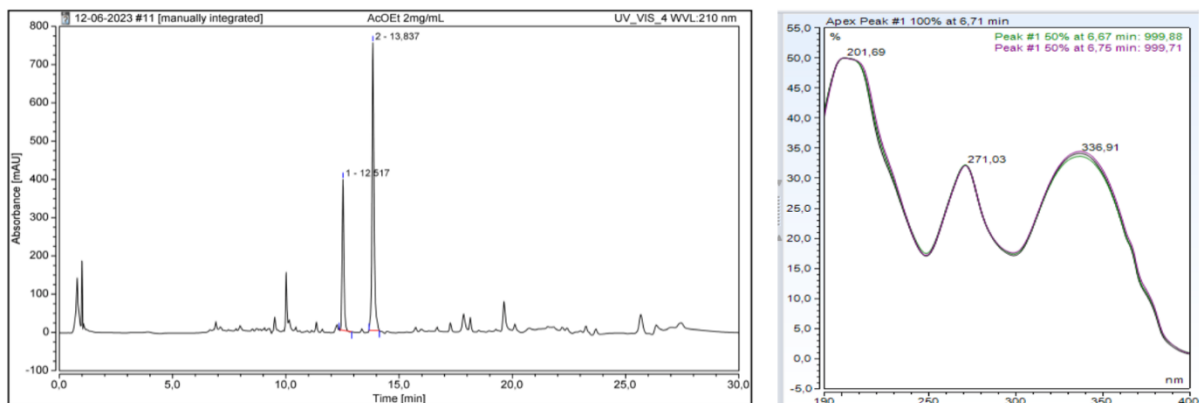


Figure 13 : Chromatogramme de l'extrait total dans l'AcOEt et d'un spectre UV (Typique d'un flavonoïde)

Ainsi, pour pouvoir établir une empreinte métabolomique de la plante, cette méthode a été adaptée pour une analyse CLHP/SM, ce profil chromatographique (Figure 14) est donc utilisé comme référence pour la comparaison de nos échantillons suspectés dans les cas d'intoxication.

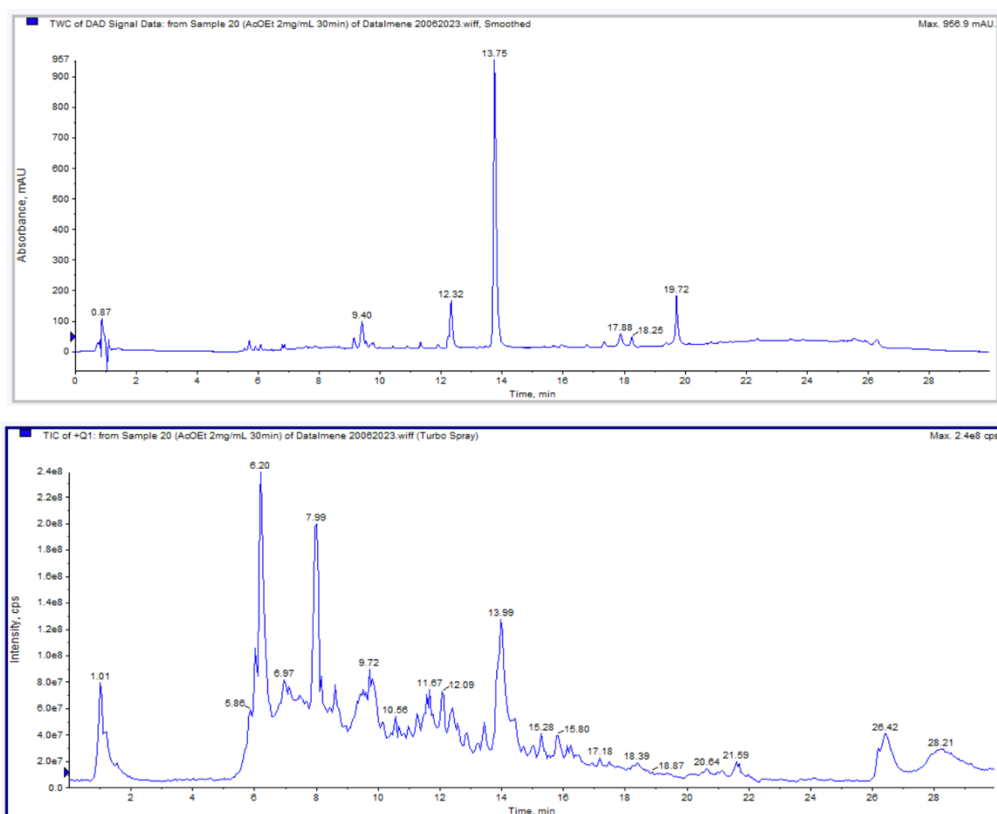


Figure 14 : Chromatogramme (détection UV à 210nm et spectrométrie de masse) de l'extrait total AcOEt

Etablissement de profils métabolomiques par CPG/SM

Les molécules polaires sont généralement non volatiles et difficiles, voire impossibles à analyser par CPG. Afin de rendre ces composés polaires volatils et analysables, la dérivation en CPG est utilisée pour les transformer en dérivés ayant une structure chimique similaire mais une polarité réduite. Cette approche améliore l'efficacité et la détection de l'analyse, tout en stabilisant les composés dérivés et en les rendant plus résistants aux températures élevées.

Parmi les principales méthodes de dérivation existantes, on trouve la silylation, l'alkylation et l'acétylation. Dans cette étude, un protocole d'oximation suivi d'une triméthylsilylation, basé sur la méthode publiée par Zs.Füzfai et I.Molnár-Perl (Füzfai et Molnár-Perl 2007), a été adoptée. La silylation directe des sucres conduit à une multitude de pics chromatographiques, car chaque composé peut former différentes structures cycliques ou à chaînes ouvertes lors de la silylation. Cependant, l'introduction préalable d'une étape d'oximation avant la silylation permet d'inhiber la cyclisation des sucres et de simplifier les chromatogrammes. De plus, l'oximation prévient la formation d'énols sur certains groupes cétoniques, ce qui stabilise les molécules. L'hexaméthyl-disilazane (HDMS) a été choisi comme agent de dérivation dans cette étude.

De plus, une méthylation des premières fractions apolaires a été tentée en suivant un protocole standardisé au laboratoire.

L'analyse par CPG/SM des extraits totaux (AcOEt, DCM et hexane) et des différentes fractions a révélé la présence de divers métabolites primaires constituant la plante, notamment les acides gras et le glycérol qui sont abondants (acide palmitique, linoléique, octadécadiénoïque, etc.) ainsi que des sucres (fructose, galactose, glucose, etc.). Les résultats

de l'analyse qualitative sont résumés dans l'annexe 4, tandis que les conditions chromatographiques sont détaillées dans l'annexe 5.

La figure 15 présente le chromatogramme de la fraction apolaire F4, mettant en évidence la présence d'acides gras, en plus de l'acide malique (métabolisme des lipides) et de l'acide oxalique qui est présent dans la majorité des fractions, ce qui est cohérent avec l'abondance de sels d'oxalate de calcium dans cette plante observée au microscope optique et la figure 16 le spectre de masse de l'acide oxalique.

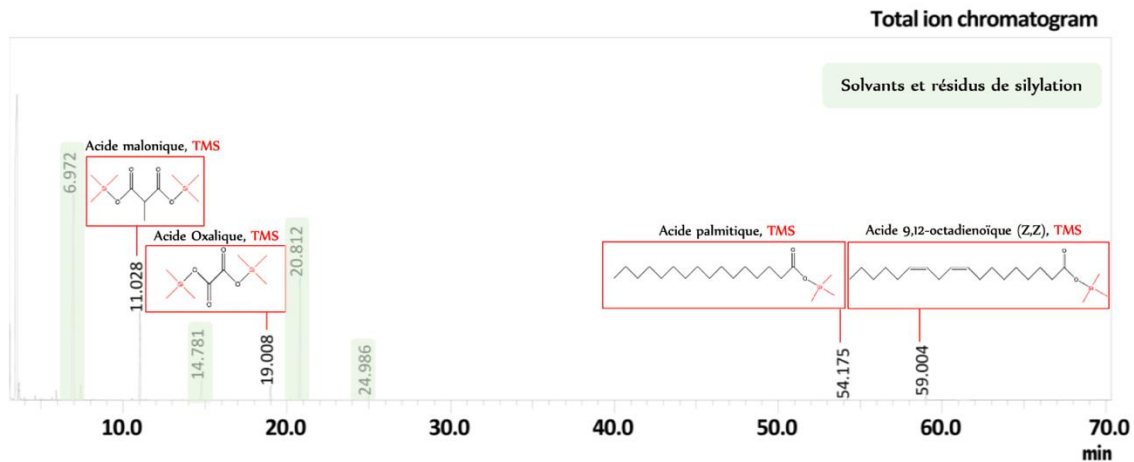


Figure 15 : Chromatogramme de la fraction F4 silylée

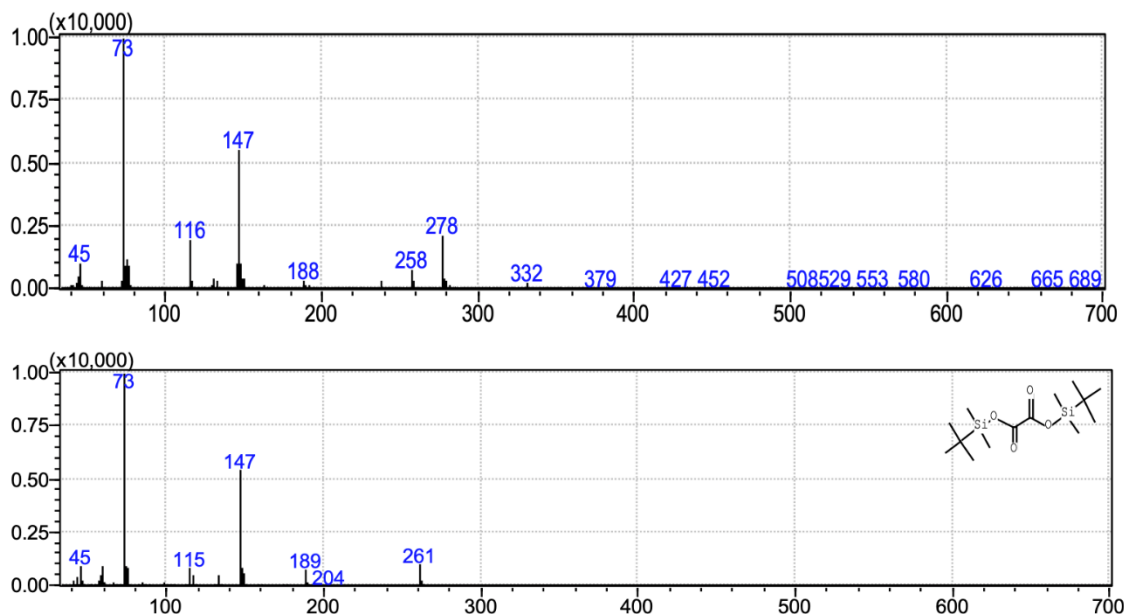


Figure 16 : Spectre de masse du pic correspondant à l'acide oxalique comparé à une référence

5.2.2 Analyse d'un lot cas (lot du 8/11/2022)

5.2.2.1 Analyse microscopique

Un des lots envoyés par le CAPTV de Nancy (lot du 8/11/2022) a été soumis aux mêmes analyses décrites plus haut, les résultats de l'analyse micro et macroscopique ont donné le même profil

que les lots commerciaux, notamment une richesse en mucilages et en cristaux d'oxalate de calcium (Figure 17).

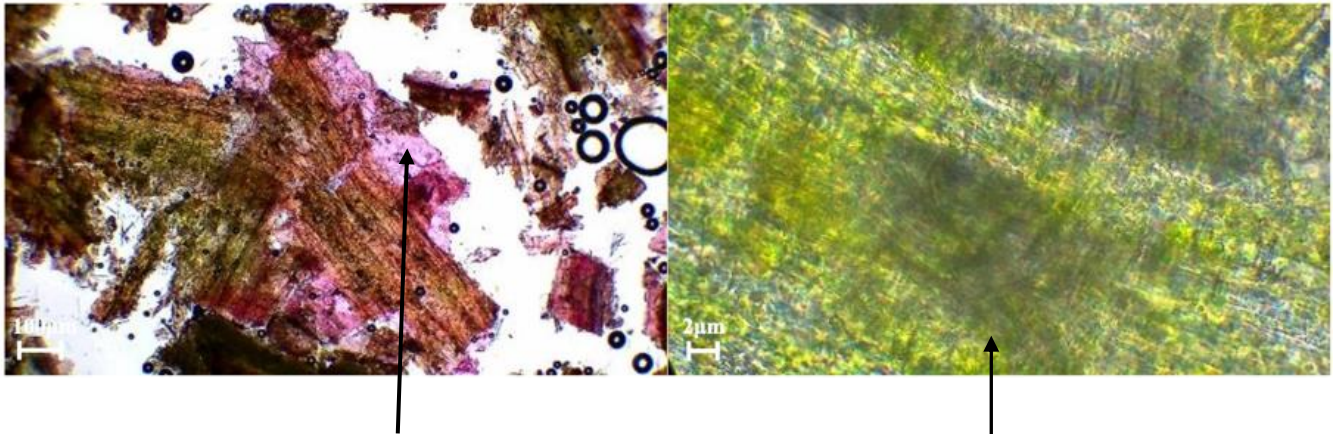


Figure 17 : Observation des mucilages du lot cas avec le Ruthenium Red (a), des cristaux d'oxalate de calcium (b). Les flèches désignent des amas de cristaux.

5.2.2.2 Comparaison des empreintes métabolomiques

L'analyse par CCM et CLHP/SM, bien qu'ayant donné des profils qualitatifs relativement similaires (Figures 18 et 19) montre des proportions légèrement différentes de ses constituants.

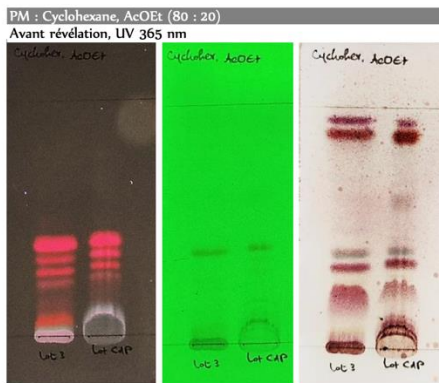
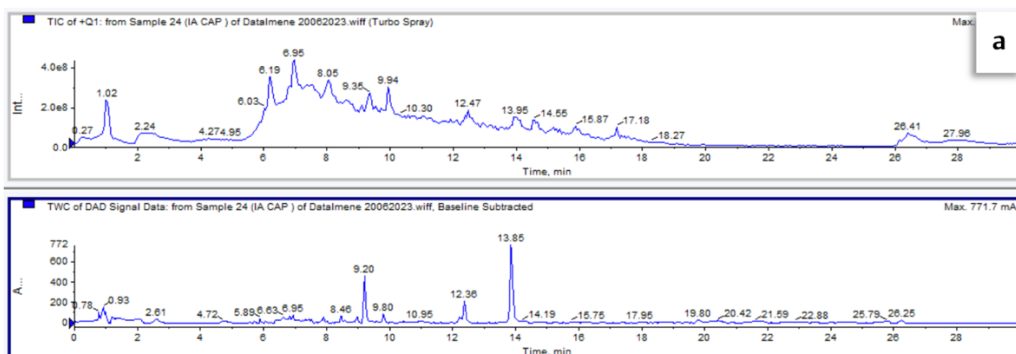


Figure 18 : CCMs des extraits d'AcOEt d'un lot commercial (3) et du lot transmis par le CAP



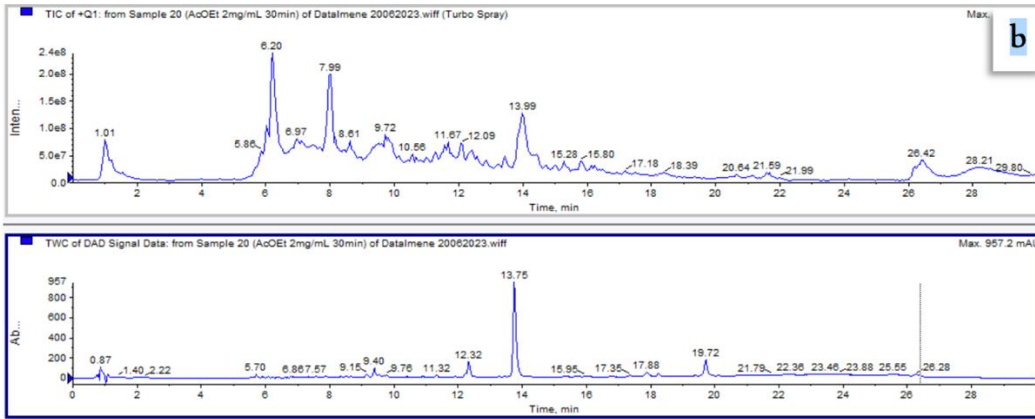


Figure 19 : Chromatogramme et profil de masse de l'échantillon CAP (a) et d'un lot commercial (b)

6 Discussion

A ce jour, aucune publication scientifique ne fait état de toxicité chez l'Homme.

Cependant, suite à l'alerte réalisée en 2019, il est à noter que les CAP continuent à enregistrer chaque année des cas de personnes symptomatiques suite à la consommation de ces plantes considérées pour rappel comme comestibles.

Si on analyse les caractéristiques des cas colligés par les CAP durant la période 2022-2023 et en les comparant avec les données déjà remontées auparavant, certaines caractéristiques de ces intoxications peuvent être décrites.

Principalement, on retrouve comme éléments communs :

- La présence au sein des consommateurs de personnes symptomatiques (60 % dans notre étude, 75 % précédemment) et asymptomatiques. L'existence de personnes asymptomatiques au sein d'un même groupe de consommateurs va dans le sens d'une susceptibilité individuelle possible à certaines substances contenues dans ces plantes
- La fréquence des cas d'exposition intrafamiliaux en raison de la consommation d'un même repas, ou entre proches ou amis. Même si la symptomatologie peut mimer une réaction allergique à un aliment, cet élément va à l'encontre d'un possible mécanisme immuno dédié. De plus, aucune personne dans notre étude n'avait d'antécédent d'allergie alimentaire
- Le délai de survenue des symptômes similaire, en moyenne de 4 heures dans notre étude (3 heures précédemment)
- La nette prépondérance des symptômes ORL avec douleurs oropharyngées, dysphagie intense, sensation d'œdème buccal ou pharyngé, parfois objectivés médicalement, dysphonie, et aussi la description également, quoique plus rare, de troubles digestifs, cutanés ou d'hyperthermie. Le cas de dyspnée était en relation avec un tableau d'œdème de Quincke chez un patient. Antérieurement avaient également été observés, la survenue de symptômes en dehors de la sphère ORL ou digestive : érythème, urticaire, hyperthermie, myalgies, douleurs vaginales
- Un mécanisme de « sensibilisation » pourrait être évoqué dans certains cas, des consommations antérieures avec symptômes similaires mais plus modérés ayant été objectivé chez un même consommateur. C'était le cas chez une personne dans notre étude et d'autres personnes antérieurement.
- La survenue de cas graves menaçant le pronostic vital sans traitement, de type œdème de Quincke, décrits dans notre étude et auparavant, nécessitant une prise en charge hospitalière impérative
- Il n'a pas été observé de relation dose-effet à ce jour, les symptômes étant apparus pour certains patients dès consommation d'une seule asperge des bois

Concernant les plantes impliquées dans les repas consommés dans notre étude :

- L'absence de confusion alimentaire avec d'autres plantes était très probable, en raison de l'aspect caractéristique des asperges des bois et des cas où l'identification de la plante a été possible sur photographie

- La survenue de symptômes après cuisson des plantes, d'une durée variable certes, et même congélation dans la première série rapportée : ce qui indique que les substances en cause seraient thermostables.
- Concernant l'origine des plantes impliquées dans les dossiers rapportés aux CAP, alors que les ornithogales de Pyrénées poussent sur presque tout le territoire français, dans notre étude les repas de plantes ont principalement eu lieu dans le nord-est de la France, ainsi que la cueillette des plantes concernées. Ceci est probablement dû à des habitudes de consommation de plantes sauvages bien ancrées dans ces régions, et notamment de consommation de cette plante. La demande commerciale étant devenue plus forte et la disponibilité nationale importante de ces plantes, le nombre de consommateurs devrait rapidement croître dans les années à venir et par conséquent le nombre de personnes symptomatiques.

Concernant le mécanisme de toxicité de ces plantes, l'analyse de celles-ci a permis de répondre en partie aux interrogations posées.

Il est probable que la présence abondante de cristaux d'oxalate de calcium sous forme de raphides soit en partie à l'origine des cas de toxicité, qui se manifestent principalement par des douleurs oropharyngées intenses, une sensation de gonflement dans la bouche et la gorge, des difficultés à avaler, et un œdème buccal. Ce mécanisme est en accord avec ce qui a été décrit dans la littérature (Gardner 1994), où ces cristaux seraient à l'origine de lésions des muqueuses qui précèdent une inflammation aiguë. Des cas similaires d'intoxication ont été signalés en 2009 à Hong Kong, liés à la consommation de chou chinois contenant des raphides d'oxalate de calcium, selon le Center for Health Protection du ministère de la Santé. Le contact de ces cristaux avec les muqueuses peut donner une symptomatologie simulant une anaphylaxie et un angio-œdème (Ceretto et Nacca 2018).

Plus de 215 familles de plantes sont connues pour contenir des cristaux d'oxalate de calcium et l'effet est généralement présent dès le contact buccal, et chez la majeure partie des personnes concernées, ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Cependant, Mrvos et al. décrivent que environ seulement 35% des personnes exposées développent des symptômes (Mrvos, Dean, et Krenzelok 1991).

Il est également envisageable que la richesse de la plante en mucilages, aurait pour conséquence d'augmenter le temps de contact avec la sphère oro-pharyngée, ce qui pourrait contribuer à ce processus de lésion irritative. Cette interaction pourrait également permettre de véhiculer des toxines potentiellement présentes dans la plante. Cette hypothèse pourra être explorée dans le cadre d'analyse phytochimiques plus poussées, les conditions de purification par CLHP étant établies. De plus, la méthode développée en CLHP/SM permettra de comparer les différents extraits, ce qui facilitera leurs identification à l'avenir.

Plusieurs publications font état de limitation des effets irritants des plantes contenant des raphides d'oxalate de calcium après cuisson (Elephant foot ou *Amorphophallus paeoniifolius*) (Ceretto et Nacca 2018) permettant la consommation de la plante, ce qui n'est visiblement pas le cas de asperges des bois.

Si la mise en évidence de raphides d'oxalate de calcium peut expliquer la symptomatologie ORL voire digestive observée, cela n'est pas le cas avec les autres symptômes rapportés, en dehors de l'hyperthermie modérée, déjà décrite dans les intoxications végétales (Flesch 2005).

Des essais biologiques préliminaires ont été entrepris afin de rechercher des différences d'activité proinflammatoire (annexe 6). L'effet sur les cytokines testées semblait cependant

faible et nécessiterait d'être complété par la réalisation de tests sur d'autres cytokines. Un bioguidage permettrait de mieux cerner les extraits susceptibles de présenter des activités inflammatoires et de rechercher d'une manière plus ciblée une ou des substances chimiques accompagnant l'effet des raphides d'oxalate de calcium.

Dans les perspectives, il serait également intéressant d'explorer la possibilité de détecter voire quantifier l'acide oxalique par CPG/SM dans un cadre du dépistage de la toxicité de la plante. Cette approche devra être standardisée pour établir un protocole de laboratoire. Cela permettrait de comparer la richesse en raphides par rapport à d'autres plantes toxiques en contenant (arum, dieffenbachia...).

Au total, la surveillance des cas de consommation d'asperges de bois avec effets indésirables chez certains consommateurs, a permis de conforter l'existence d'une toxicité de ces plantes. Si l'analyse des plantes réalisée au cours de cette étude a permis de mieux comprendre certains mécanismes de toxicité, de nombreuses inconnues subsistent et le mécanisme de toxicité n'est pas complètement élucidé.

7 Conclusion et perspectives

L'étude réalisée sur la période 2022-2023 a permis l'amélioration des connaissances sur l'ornithogale des Pyrénées, plante relativement méconnue, et dont la consommation pourrait présenter des risques avérés pour la santé.

L'analyse des cas des CAP durant la période d'étude 2022-2023 a conforté le signal émis en 2019 sur une potentielle toxicité de l'ornithogale de Pyrénées, même si celle-ci n'est pas décrite dans la littérature, très pauvre concernant cette plante. Même si les cas sont peu fréquents, ils sont très probablement sous-estimés, car les personnes n'appellent pas forcément les CAP, et d'autre part la relation entre la consommation de la plante et la survenue des symptômes, pouvant mimer une réaction allergique, n'est pas faite y compris lors de la consultation médicale.

Les caractéristiques du tableau clinique décrit en 2019 sont retrouvées lors de notre étude : délai différé d'apparition des symptômes, tableau clinique similaire, survenue non systématique de symptômes lors d'un repas collectif, agrégats de cas familiaux non consanguins...La survenue de cas graves de type œdème de Quincke avait été signalée en 2019, et a été à nouveau décrite pendant la période d'étude.

L'analyse des plantes réalisées au cours de cette étude a permis de mieux comprendre certains mécanismes de toxicité. La découverte d'une grande quantité de raphides d'oxalate de calcium intégrée dans un mucilage abondant, peut expliquer les phénomènes douloureux oropharyngés, la dysphagie intense décrite par de nombreuses personnes et peut être la sensation de gonflement buccal ou laryngée décrites également. L'abondant mucilage peut expliquer la survenue retardée de symptômes après ingestion, ainsi qu'un certain effet rémanent dans le temps de ceux-ci par prolongation du temps de contact des raphides avec la muqueuse.

Cependant d'autres plantes sont bien connues pour contenir des raphides d'oxalate de calcium et l'effet est généralement présent dès le contact buccal, dans des délais courts, et chez la plupart des personnes concernées, ce qui n'est pas le cas dans notre étude.

Des essais biologiques préliminaires ont été entrepris afin de rechercher des différences d'activité proinflammatoire et nécessiteraient d'être complétés.

Il serait également intéressant de compléter l'étude des plantes par la quantification des raphides d'oxalate pour pouvoir les comparer à d'autres plantes toxiques connues pour être riches en raphides d'oxalate de calcium (arum, dieffenbachia...).

La plus grande disponibilité des asperges des bois, notamment par vente, récente, sur les marchés, et dans certains supermarchés, devrait entraîner progressivement une augmentation du nombre de personnes symptomatiques et par conséquent représenter un risque pour de nombreux consommateurs.

En conclusion de cette étude, il est recommandé :

- De poursuivre la surveillance des cas rapportés aux CAP
- De compléter les analyses des plantes pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de toxicité
- De réaliser une information auprès du public sur les risques liés à la consommation des ornithogales de Pyrénées
- De donner le conseil d'appeler un CAP en cas de survenue de symptômes dans les suites de l'ingestion de cette plante. Le CAP donnera à l'appelant des conseils de prise en charge et enregistrera le cas dans la base de données nationale permettant de faire évoluer les connaissances sur cette problématique.

8 Bibliographie

- Archer, Clare, et R.H. Archer. 1999. « A new species of *Ornithogalum* subgenus *Urophyllon* (Hyacinthaceae) from central South Africa and southern Namibia ». *South African Journal of Botany* 65 (5-6) : 431-33. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)31035-8](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)31035-8).
- Botha, C. J., R. A. Schultz, J. J. van der Lugt, et C. Archer. 2000. « A krimpsiekte-like syndrome in small stock poisoned by *Ornithogalum toxicarium* Archer & Archer ». *Journal of the South African Veterinary Association* 71 (1) : 6-9. <https://doi.org/10.4102/jsava.v71i1.668>.
- Ceretto, Vincent, et Nicholas Nacca. 2018. « Mucosal Injury From Calcium Oxalate Crystals Resembling Anaphylaxis and Angioedema ». *The Journal of Emergency Medicine* 55 (5) : 666-69. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2018.07.016>.
- Flesch, F. 2005. « Intoxications d'origine végétale ». *EMC - Médecine* 2 (5) : 532-46. <https://doi.org/10.1016/j.emcmed.2005.08.001>.
- Füzfai, Zs., et I. Molnár-Perl. 2007. « Gas chromatographic–mass spectrometric fragmentation study of flavonoids as their trimethylsilyl derivatives: Analysis of flavonoids, sugars, carboxylic and amino acids in model systems and in citrus fruits ». *Journal of Chromatography A* 1149 (1) : 88-101. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.060>.
- Gardner, David G. 1994. « Injury to the oral mucous membranes caused by the common houseplant, *dieffenbachia* ». *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 78 (5) : 631-33. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(94\)90177-5](https://doi.org/10.1016/0030-4220(94)90177-5).
- Hildebert Wagner , Sabine Bladt. 1996. « Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas », 1996.
- Hill, D. J., et B. Price. 2000. « *Ornithogalum pyrenaicum* L. ». *Journal of Ecology* 88 (2) : 354-65. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00446.x>.
- Kubo, Satoshi, Yoshihiro Mimaki, Miki Terao, Yutaka Sashida, Tamotsu Nikaido, et Taichi Ohmoto. 1992. « Acylated cholestane glycosides from the bulbs of *Ornithogalum saundersiae* ». *Phytochemistry* 31 (11) : 3969-73. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97565-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97565-4).
- Malabed, Raymond, Shinya Hanashima, Michio Murata, et Kaori Sakurai. 2017. « Sterol-recognition ability and membrane-disrupting activity of *Ornithogalum* saponin OSW-1 and usual 3-O-glycosyl saponins ». *Biochimica Et Biophysica Acta. Biomembranes* 1859 (12) : 2516-25. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.09.019>.
- Mimaki, Yoshihiro, Minpei Kuroda, Aiko Kameyama, Yutaka Sashida, Toshihiko Hirano, Kitaro Oka, Rhuji Maekawa, Toru Wada, Kenji Sugita, et John A. Beutler. 1997. « Cholestane glycosides with potent cytostatic activities on various tumor cells from *Ornithogalum saundersiae* bulbs ». *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 7 (5) : 633-36. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(97\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(97)00071-1).
- Mrvos, Rita, Bonnie S. Dean, et Edward P. Krenzelok. 1991. « *Philodendron*/*Dieffenbachia* Ingestions: Are They a Problem? ». *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* 29 (4) : 485-91. <https://doi.org/10.3109/15563659109025745>.
- N°PRME8961014A. 1989. « Arrêté du 13 octobre 1989 relatif à la liste des espèces végétales sauvages pouvant faire l'objet d'une réglementation préfectorale permanente ou temporaire. », 10 décembre 1989.

- Persson, Hans E., Gunilla K. Sjöberg, John A. Haines, et Jenny Pronczuk De Garbino. 1998. « Poisoning Severity Score. Grading of Acute Poisoning ». *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* 36 (3) : 205-13. <https://doi.org/10.3109/15563659809028940>.
- Piette, M., et N. Parvanchere. 1960. « [Phytohemagglutinins in Liliaceae. II. Agglutinins in the seeds of *Ornithogalum pyrenaicum* L. (First results)] ». *Annales Pharmaceutiques Francaises* 18 (septembre) : 619-24.
- . 1961. « [Phytohemagglutinins in the Liliaceae. III. Specificity of the agglutinin in the seeds of *Ornithogalum pyrenaicum* L.] ». *Annales Pharmaceutiques Francaises* 19 (janvier) : 15-19.
- . 1962a. « [Phytohemagglutinins in Liliaceae plants. V. Physicochemical properties of agglutinins in *Ornithogalum pyrenaicum* L. seeds] ». *Annales Pharmaceutiques Francaises* 20 (avril) : 353-57.
- . 1962b. « [Phytohemagglutinins in Liliaceae plants. VI. Research on species other than *Ornithogalum pyrenaicum*] ». *Annales Pharmaceutiques Francaises* 20 (avril) : 358-60.
- Satiraphan, Malai, Perayot Pamonsinlapatham, Uthai Sotanaphun, Chavalit Sittisombut, Françoise Raynaud, Christiane Garbay, Sylvie Michel, et Xavier Cachet. 2012. « Lupane triterpenes from the leaves of the tropical rain forest tree *Hopea odorata* Roxb. and their cytotoxic activities ». *Biochemical Systematics and Ecology* 44 (octobre) : 407-12. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.05.014>.
- Sobolewska, Danuta, Agnieszka Galanty, Karolina Grabowska, Justyna Makowska-Wąs, Dagmara Wróbel-Biedrawa, et Irma Podolak. 2020. « Saponins as cytotoxic agents: an update (2010–2018). Part I—steroidal saponins ». *Phytochemistry Reviews* 19 (1) : 139-89. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09661-0>.

9 Annexes

Annexe 1 : Formulaire d'enquête : ingestion d'asperges sauvages ou ornithogales

Référente nationale de l'enquête : Dr Christine TOURNOUD, CAP Est, CHRU de Nancy

Les Ornithogales des pyrénées (*Loncomelos pyrenaicum*) souvent appelées asperges de bois ou asperges sauvages sont des plantes considérées comme comestibles autorisées à la vente, qui depuis quelques années, comme pour d'autres plantes sauvages type ail des ours, voient leur consommation augmentée. Elles sont actuellement disponibles également sur les marchés et dans certains supermarchés. Depuis quelques années des cas d'ingestion symptomatiques sont décrits par les CAP (voir liste symptômes ci-dessous, d'apparition différée par rapport à l'ingestion). Les toxines naturelles en cause sont actuellement inconnues. Cette enquête a pour but de mieux documenter les cas d'exposition et particulièrement les cas symptomatiques.

Conservation

Lorsqu'un CAP est appelé par une personne rapportant des signes cliniques suite à la consommation d'asperges des bois, il demande à la personne de mettre sans délai les restes du repas (asperges des bois) dans un sac plastique propre (type sac pour congeler les aliments), puis les congeler et les conserver à -18°C pour des analyses ultérieures.

Signalement

① Le CAP contacte la référente nationale (c.tournoud@chru-nancy.fr) pour la gestion des échantillons.

Le CAP complète directement le formulaire d'enquête dans le Service des cas médicaux (SCM). La référente nationale accède aux éléments de la fiche de recueil et au contenu du dossier SCM.

Une requête automatique quotidienne est par ailleurs mise en place dans le système d'information des CAP (SICAP) pour aider à l'identification des cas suspects.

Suivi

Le suivi est réalisé par le CAP géographiquement compétent si celui-ci n'est pas celui qui a reçu l'appel (comme usuellement). Il complète le formulaire d'enquête, objective l'ensemble du tableau clinique, la prise en charge du patient et l'évolution.

① Lors du suivi, le CAP géographiquement compétent prévient le patient qu'il va être rappelé par la référente nationale de l'enquête. Il marque dans le dossier que le patient a donné son accord pour être rappelé par la référente nationale.

Un formulaire d'enquête est à remplir directement dans le SCM pour tout patient symptomatique.

1) Identification du dossier

- **Le numéro du dossier est celui du SCM.**
- S'agit-il d'un cas groupé (deux convives intoxiqués ou plus) : oui/ non
- Si oui : nombre de convives symptomatiques..... asymptomatiques.....

Si oui, veiller à remplir le numéro du regroupement (option : numéro SCM de tous les cas) :

2) Provenance et identification de la plante (cueillette sauvage/achat/restaurant/jardin potager) :

- **Cueillette sauvage** par un particulier :
 - L'appelant lui-même
 - Un tiers
 - Le cueilleur est connaisseur de la plante oui/ non
 - Date de cueillette (même approximative) : .../.../.....
 - Code postal du lieu de cueillette : Ex : 54510 ou 54000 :
 - Commune (nécessaire pour géolocaliser le cas) :

- **Achat** dans un lieu de vente identifié :
 - Sur un marché :
 - Dans un magasin (Ex : primeur...) ou un supermarché :
 - Chez un grossiste :
 - Identification du lieu de vente : nom de l'enseigne :
 - Adresse :
 - CP + ville :
 - Date d'achat : ... /... /.....
 - Le vendeur a signalé la possibilité de symptômes après ingestion ? oui / non

- **Consommation dans un restaurant / chez un traiteur**
 - Identification du restaurant / traiteur : nom de l'enseigne :
 - Adresse :
 - CP + ville :

- **Consommation issue d'un jardin potager**
 - oui/ non
 - Le cueilleur est connaisseur de la plante oui/ non
 - Date de cueillette (même approximative) : .../.../.....
 - Code postal du lieu de cueillette : Ex : 54510 ou 54000 :
 - Commune (nécessaire pour géolocaliser le cas) :

Dans tous les cas :

- Photo plante (avant consommation ou reliquat achat / cueillette) jointe au dossier : oui / non
- Identification de la plante par la Phytoliste : oui / non

3) Conservation de la plante :

Les asperges ont été conservée avant leur consommation : oui/ non

Si oui :

Modalités

Au réfrigérateur dans un sac Au réfrigérateur hors d'un sac

Au congélateur dans un sac Au congélateur hors d'un sac

Délai de conservation avant la congélation (en heures) :

A température ambiante dans un sac A T° ambiante hors d'un sac

Durée de conservation (en heures) :

4) Consommation de la plante

- o Crues :
- o Cuites : si cuites : mode de cuisson : à l'eau à la vapeur
sautées au four

Durée de cuisson : (minutes)

Délai entre cuisson et consommation : (minutes)

5) Personne exposée

Symptômes présentés et délai de survenue (délai en minutes)

- o Pas de symptômes oui/ non délai : min.
 - o Douleurs oropharyngées oui/ non délai : min.
 - o Sensation de gonflement dans la bouche/gorge oui/ non délai : min.
 - o Dysphagie oui/ non délai : min.
 - o Hypersialorrhée oui/ non délai : min.
 - o Œdème buccal objectivé par un médecin oui/ non délai : min.
 - o Œdème de Quincke oui/ non délai : min.
 - o Dysphonie oui/ non délai : min.
 - o Troubles digestifs oui/ non délai : min.
 - o Myalgies oui/ non délai : min.
 - o Prurit, urticaire oui/ non délai : min.
 - o Hyperthermie transitoire oui/ non délai : min.
 - o Autres : délai : min.
- o Terrain allergique connu oui / non

Si oui : à quoi :

- o Consommation antérieure d'asperge sauvage :
 - non
 - oui, une seule fois dans la vie de l'exposé, cette année,
 - oui, une seule fois dans la vie de l'exposé l'an dernier,
 - oui, plusieurs fois, cette année uniquement,
 - oui, plusieurs fois, les années antérieures,
 - oui, plusieurs fois, mais sans précision possible.

Si oui :

- Symptômes similaires ou évocateurs : oui / non
- Si oui, lesquels :

6) Suivi

- Traitement : oui/ non
- Durée des symptômes :

Fin du questionnaire.

Annexe 2

Tableau de synthèse des repas et des cas d'exposition à des asperges des bois rapportés aux Centres antipoison en 2022 et 2023. Les cas symptomatiques sont surlignés en orange.

Origine plantes	Quantité ingérée Mode de préparation	Sexe Age Antécédents	Symptômes	Délai apparition symptômes	Prise en charge	Durée symptômes	Conso antérieure Symptômes O/N	Gravité (PSS) Imputabilité
Cueillette personnelle	30 asperges 4 min eau bouillante	Femme 57 ans Diabète HTA Allergie pollen + AB	Dysphagie intense, œdème buccal, douleur auriculaire	4h	Surveillance domicile Antalgiques Antihistaminiques	5j	Oui ++ N	PSS2 non exclue (I1)
		Homme 58 ans HTA	Dysphagie intense, œdème buccal douleur articulaire	4h	Surveillance domicile Antalgiques Antihistaminiques	5j	Oui ++ N	PSS2 non exclue (I1)
Cueillette tiers connaisseur	entre 1/4 asperges et 150g entre 7 et 15 min eau bouillante	Homme 66 ans HTA	Aucun	0			Non	PSS0 Non applicable (Ii)
		Femme 58 ans Allergie AB	Aucun	0			Non	PSS0 Non applicable (Ii)
		Homme 57 ans bipolarité BPCO Allergie pollen	Sensation œdème gorge, érythème fugace du visage	15 min	Surveillance domicile	30mn	Non	PSS1 non exclue (I1)
Cueillette personnelle	150g 4 min eau bouillante Lot de plantes analysées dans le cadre de la CRD	Femme 68 ans HTA dyslipidémie artériopathie	Dysphagie intense, sensation œdème pharyngé	4h	Surveillance urgences 4h Corticoïdes Antihistaminiques	24h	Oui N	PSS2 non exclue (I1)
		Homme 70 ans HTA dyslipidémie	Dysphagie intense sensation œdème pharyngé, œdème lèvres et langue, dyspnée, gêne à l'élocution œdème de Quincke	4h	Surveillance urgences 12h Corticoïdes Antihistaminiques Oxygène normobare Aérosol adrénaline Aérosol terbutaline	24h	Oui O Même symptomatologie + Faible	PSS2 non exclue (I1)

Cueillette personnelle	Petite quantité NSP	Homme 72 ans dyslipidémie	Douleur abdominale, nausée, diarrhée, hyperthermie 38°C	3h	Consultation MT Paracétamol Spasfon	2j	NSP	PSS1 non exclue (I1)
		Femme 68 ans Aucun	Aucun	0h			NSP	PSS0 non applicable (Ii)
plantes données par tiers inconnu	30 asperges 6 min eau bouillante	Homme 59 ans diabète	Vomissement, diarrhée	6h	Consultation MT Antalgique Spasfon	7h	Oui N	PSS1 Non exclue [I1]
	2 asperges 6 min eau bouillante	Femme 57 ans Aucun	Aucun	0h			Non	PSS 0 non applicable (Ii)
achat marché cueillette maraicher	modérée 5 min eau bouillante	Femme 46 ans Allergie pollen, lessive	Dysphagie intense, douleur oropharyngée sensation œdème pharyngé dysphonie, érythème visage durée 24 h	1h	Consultation urgences Corticoïde Antihistaminiques	24h	Oui achat même maraicher plusieurs années N	PSS2 Non exclue (I1)
	Beaucoup 5 min eau bouillante	Homme 62 ans Aucun	dysphagie douleur oropharyngée	1h	Surveillance domicile	4h	Oui achat même maraicher plusieurs années N	PSS1 Non exclue (I1)
cueillette par tiers connaisseur	Petite quantité (risotto) 20 min vapeur	Femme 35 ans Aucun	Aucun	0h			Oui N	PSS0 Non applicable (Ii)
		Femme 40 ans Aucun	Aucun	0h			Oui N	PSS0 Non applicable (Ii)
		Femme 65 ans Aucun	Aucun	0h			Oui N	PSS0 Non applicable (Ii)

		Homme 63 ans Aucun	Aucun	0h			Oui N	PSS0 Non applicable (Ii)
		Homme 36 ans Aucun	Dysphagie intense dysphonie, hypersialorrhée	1h30	Consultation urgences Corticoïde antihistaminique	6h	oui depuis longtemps N	PSS2 Non exclue (I1)
achat marché grossiste	Quantité modérée revenues à la poêle	Homme 63 ans Aucun	Dysphagie intense œdème buccal douleur oropharyngée Sensation œdème pharyngé douleur épigastrique	1h30	Consultation médecin généraliste Antihistaminique	3j	Oui 2 dernières années N	PSS2 Non exclue (I1)
		Femme 56 ans Allergie AB Gougerot-Sjögren	Dysphagie intense œdème buccal douleur oropharyngée Sensation œdème pharyngé	1h30	Consultation médecin généraliste antihistaminique	2j	Oui 2 dernières années N	PSS2 Non exclue (I1)

2.8.4. SWELLING INDEX

The swelling index is the volume in millilitres occupied by 1 gram of a drug, including any adhering mucilage, after it has swollen in an aqueous liquid for 4 h.

In a 25 mL ground-glass stoppered cylinder graduated over a height of 125 ± 5 mm in 0.5 mL divisions, place 1.0 g of the drug, whole or of the degree of comminution prescribed in the monograph. Unless otherwise prescribed, moisten the drug with 1.0 mL of *alcohol R*, add 25 mL of *water R* and close the cylinder. Shake vigorously every 10 min for 1 h. Allow to stand for 3 h. At 90 min after the beginning of the test, release any large volumes of liquid retained in the layer of the drug and any particles of the drug floating at the surface of the liquid by rotating the cylinder about a vertical axis. Measure the volume occupied by the drug, including any adhering mucilage. Carry out 3 tests at the same time.

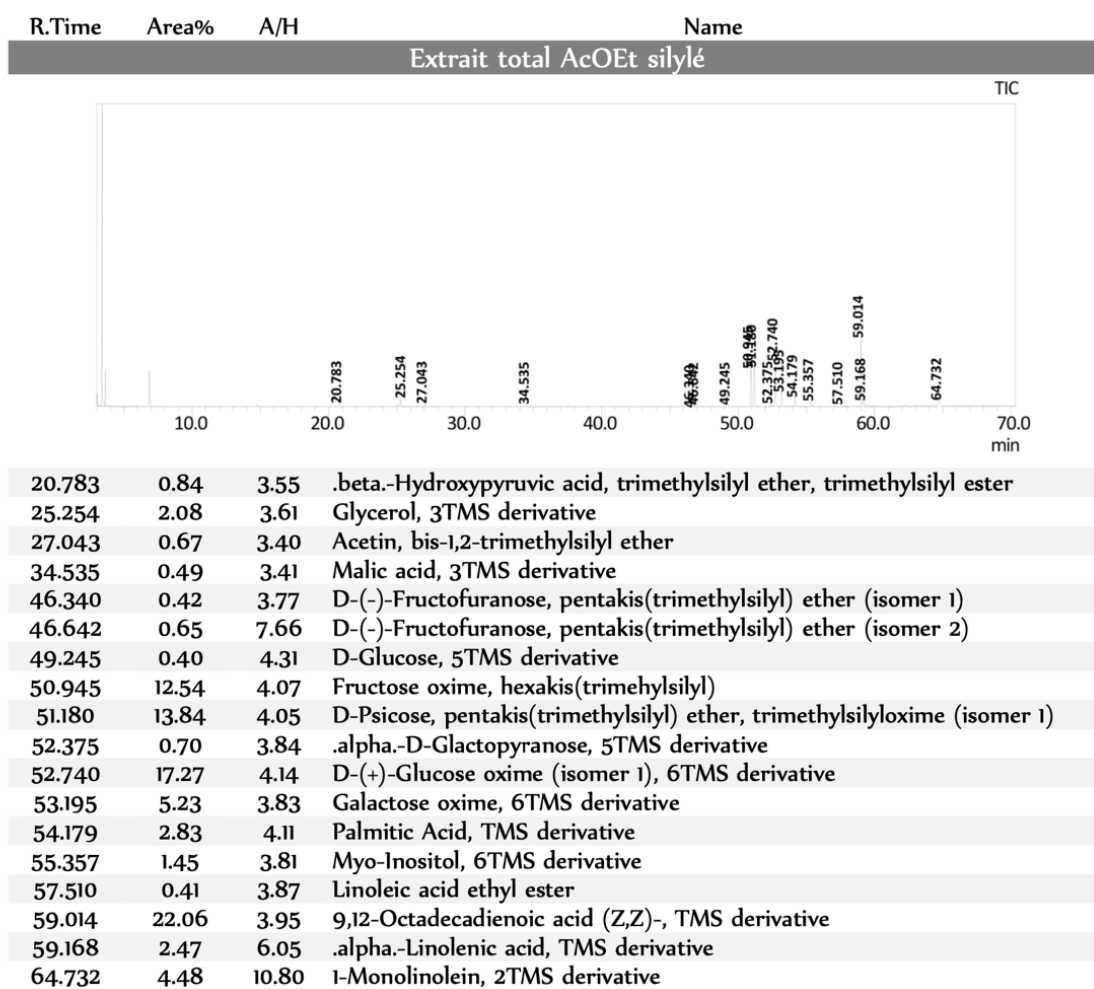
The swelling index is given by the mean of the 3 tests.

Annexe 4 : Conditions chromatographiques de séparation en CLUHP/UV et CLHP/SM

Température 25°C, Colonne Colonne Accucore C18 [100mm, 2,1mm, 2,6µm]

Temps (min)	Débit	% Eau	% Acétonitrile
0	0,3 mL/min	95	5
2	0,3 mL/min	95	5
5	0,3 mL/min	30	70
17	0,3 mL/min	0	100
23	0,3 mL/min	0	100
27	0,3 mL/min	95	5
30	0,3 mL/min	95	5

Annexe 5 : Résumé des résultats qualitatifs de l'analyse par CPG /SM des extraits totaux



Annexe 6 : Essais biologiques de recherche d'activité proinflammatoire

Modèle utilisé

Les essais ont été menés sur un modèle 3D d'épithélium buccal (EpiOral, Mattek) qui est donc proche des cellules de la muqueuse buccale.

Extraits testés

Un extrait issu d'un reste de repas ayant conduit à une réaction chez une personne (transmis par le CAP) et un extrait standard d'ornithogale des Pyrénées commercialisées ont été testés. Différents solvants d'extraction ont été utilisés : méthanol et dichlorométhane. Les extraits ont été dissous dans du DMSO.

Les extraits ont été incubés pendant 24 heures au niveau apical des modèles 3D d'épithélium buccal. Un témoin solvant DMSO, un témoin triton et un témoin SLS ont été ajoutés.

Les évaluations suivantes ont été réalisées

Evaluation de la nécrose. La nécrose a été évaluée via la mesure du taux de lactate déshydrogénase (LDH) dans le milieu de culture au niveau basal.

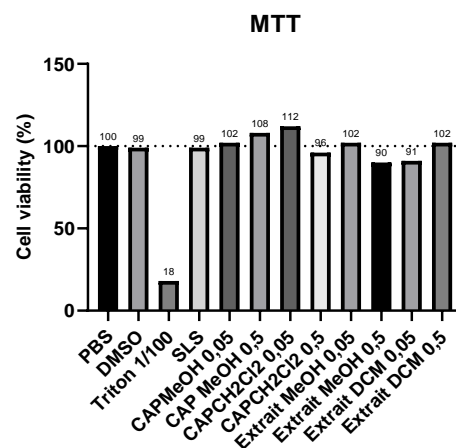
Evaluation de la viabilité cellulaire. La viabilité cellulaire a été mesurée par le test MTT (évaluation de l'activité succinate déshydrogénase).

Evaluation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-1alpha et IL-1 beta. La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-1alpha et IL-1beta a été mesurée dans le milieu de culture au niveau basal (kits Quantikine R&D système).

Résultats obtenus

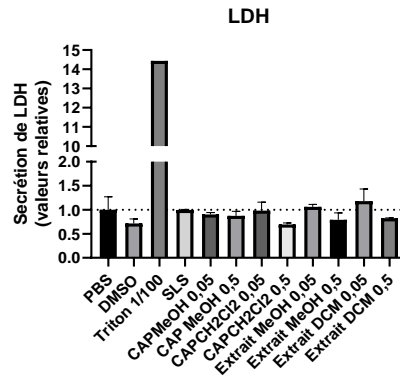
Viabilité cellulaire :

Aucune altération de la viabilité cellulaire n'a été observée après incubation avec les extraits issus du reste de repas quel que soit le solvant d'extraction ni avec l'extrait standard d'ornithogale des Pyrénées. Le triton (témoin positif) a bien induit une altération de la viabilité.



Nécrose :

Aucune augmentation de la sécrétion de LDH n'a été observée après incubation avec les extraits issus du reste de repas quel que soit le solvant d'extraction ni avec l'extrait standard d'ornithogale des Pyrénées, ce qui montre l'absence de nécrose induite par ces extraits. Le triton (témoin positif) a bien induit une augmentation de la sécrétion de LDH



Inflammation : La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-1alpha et IL-1beta est peu modifiée en présence des extraits testés. On constate une légère augmentation d'IL-1beta par l'extrait méthanolique à la plus forte concentration (0,5 mL de l'extrait de départ dans 100 mL).

