

**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n° 041

***ETUDE PHARMACOCINETIQUE ET
PHARMACODYNAMIQUE DES INTOXICATIONS AUX
ANTICOAGULANTS CHEZ LES CHIENS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 septembre 2018
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DEJEAN Marine



VetAgro Sup



**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n° 041

***ETUDE PHARMACOCINETIQUE ET
PHARMACODYNAMIQUE DES INTOXICATIONS AUX
ANTICOAGULANTS CHEZ LES CHIENS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 septembre 2018
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DEJEAN Marine



VetAgro Sup



Liste des enseignants du campus vétérinaire de Lyon (1^{er} mars 2018)

Nom	Prénom	Département	Grade
ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
JAUSSAUD	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
JEANNIN	Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Contractuel
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Stagiaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MATEOS	Stevana	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
RIVES	Germain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélié	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

Remerciements jury

A Monsieur le Professeur François MION,

De la faculté de médecine Claude Bernard de Lyon,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Etienne BENOIT,

Du campus vétérinaire de VetAgro Sup de Lyon,
Qui nous fait l'honneur d'encadrer ce travail de thèse,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Sébastien LEFEBVRE,

Du campus vétérinaire de VetAgro Sup de Lyon,
Qui a accepté d'être membre de ce jury de thèse
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Virginie LATTARD,

Du campus VetAgro Sup de Lyon,
Pour m'avoir guidé tout au long de ce projet et corrigé ce travail de thèse.
Pour votre disponibilité et votre gentillesse.
Sincères remerciements.

Table des matières

<i>Table des annexes</i>	13
<i>Table des figures</i>	15
<i>Table des tableaux</i>	17
<i>Liste des abréviations</i>	19
<i>Introduction</i>	21
I. Toxicologie des raticides anticoagulants	23
A. Importance de la lutte contre les rongeurs.....	23
1. Les rongeurs rencontrés dans nos milieux.....	23
2. Les impacts du développement des populations de rongeurs.....	25
a) Impacts économiques.....	25
b) Impacts sur la santé humaine	26
3. Méthodes de lutte contre les rongeurs	27
4. Présentation commerciale des produits contenant des AVK.....	29
B. Propriétés des AVK.....	30
1. Les différentes familles d'AVK	30
a) Classification chimique.....	30
b) Classification toxique.....	31
2. Propriétés physico-chimiques des AVK.....	34
a) Caractéristiques physico-chimiques des AVK.....	34
b) Caractéristiques stéréochimiques des AVK.....	36
3. Pharmacocinétique des AVK.....	37
a) Absorption.....	37
b) Diffusion	37
c) Métabolisme.....	38
d) Elimination de l'organisme.....	38
e) Particularité de l'élimination des molécules de seconde génération	40
C. Mode d'action des AVK.....	40
1. Mécanisme de la coagulation	40
a) Hémostase primaire	41
b) Hémostase secondaire	43
c) Fibrinolyse	47
2. La vitamine K.....	48
a) Découverte de la vitamine K.....	48
b) Les différentes vitamines K	48
c) Pharmacocinétique de la vitamine K	49
d) Cycle de la vitamine K.....	49
3. Action des anticoagulants sur le cycle de la vitamine K.....	51

4.	Phénomène de résistance aux AVK.....	52
D.	Symptomatologie et traitement des intoxications aux AVK	53
1.	Symptomatologie.....	53
2.	Diagnostic.....	56
3.	Traitement.....	60
4.	Pronostic	62
II.	Etude expérimentale des intoxications aux raticides chez les chiens.....	63
A.	Cadre et objectifs de l'étude	63
1.	Cadre de l'étude.....	63
2.	Objectifs de l'étude.....	63
B.	Matériel et méthodes	65
1.	Recrutement des cas	65
a)	Recrutement des vétérinaires	65
b)	Recrutement des chiens.....	65
2.	Déroulement de l'étude	65
a)	Planning de l'étude	65
b)	Envoi des prélèvements	69
c)	Traitement administré au cours de l'étude.....	70
d)	Analyses biologiques	71
e)	Sondage des produits retrouvés à la vente	73
3.	Analyse des résultats	73
C.	Résultats de l'étude.....	73
1.	Descriptif de la population recrutée.....	73
2.	Résultats des chiens inclus dans l'étude	74
a)	Nombre d'échantillons reçus	74
b)	Etude de la population recrutée.....	75
c)	Etude des animaux intoxiqués	75
d)	Molécules incriminées	85
e)	Molécules disponibles à la vente	86
3.	Corrélation entre le TQ et la concentration en anticoagulant dans le plasma et les selles	87
a)	Corrélation entre le TQ et la concentration en anticoagulant dans le plasma.....	87
b)	Corrélation entre le TQ et la concentration en anticoagulant dans les selles.....	89
4.	Comparaison de la détection des AVK dans le plasma et dans les fèces	90
5.	Etude des diastéréoisomères	90
a)	Etude du difénacoum	91
b)	Etude de la bromadiolone	92
c)	Etude du brodifacoum.....	92
d)	Etude de la diféthialone	93

6.	Analyse des concentrations de facteur de coagulation chez nos chiens intoxiqués ..	93
a)	Analyse du facteur VII.....	96
b)	Analyse du facteur IX	96
c)	Analyse du facteur X	96
d)	Analyse du facteur II.....	97
D.	Discussion.....	98
1.	Population de chien recrutée.....	98
a)	Taille de l'effectif recruté	98
b)	Echantillons récoltés au cours de l'étude	99
2.	Les molécules impliquées dans les intoxications	99
3.	Métabolisme des AVK	102
a)	Corrélation entre le TQ et la concentration en AVK dans le plasma et dans les selles	102
b)	Persistances des AVK dans les selles	102
4.	Etude des diastéréoisomères	105
5.	Durée de traitement des intoxications suivant la molécule incriminée	106
6.	Utilisation des facteurs de coagulation pour le monitoring des intoxications aux AVK.....	107
7.	Perspective de l'étude	109
	<i>Conclusion</i>	111
	<i>Bibliographie</i>	113
	<i>Annexes</i>	119

Table des annexes

Annexe 1 : Schéma décisionnel (V1).....	121
Annexe 2 : Formulaire de consentement.....	123
Annexe 3 : Fiche d'inclusion	129
Annexe 4 : Cahier patient.....	131
Annexe 5 : Tableau de résultats des chiens inclus	139

Table des figures

Figure 1 : <i>Mus musculus domesticus</i>	23
Figure 2 : <i>Rattus rattus</i>	24
Figure 3 : <i>Rattus norvegicus</i>	24
Figure 4: <i>Arvicola terrestris</i>	24
Figure 5: <i>Microtus arvalis</i>	25
Figure 6 : Nasse à souris (a), tapette à souris (b), plaque de glue (c).....	28
Figure 7 : Céréales concassées (a), blocs de paraffine (b), pâte (c)	30
Figure 8: Exemple d'isomères cis et trans du difénacoum (30).....	36
Figure 9: Schéma d'entrée des anticoagulants dans les hépatocytes	38
Figure 10: Schéma bilan de la circulation des AVK dans l'organisme (32) (37).....	39
Figure 11: Elimination des isomères cis et trans du difénacoum dans le foie (29).....	40
Figure 12: Phase plaquettaire de l'hémostase primaire d'après (41).....	42
Figure 13: Cascade de la coagulation d'après (48).....	44
Figure 14: Mécanismes de régulation de la cascade de coagulation d'après (38) (52)	46
Figure 15 : La fibrinolyse d'après (37)	47
Figure 16 : Les différentes vitamines K d'après (57).....	49
Figure 17 : Cycle de la vitamine K inspiré d'après (57), (48)	51
Figure 18 : Action des AVK sur le cycle de la vitamine K.....	52
Figure 19 : Hémorragie sous conjonctivale et exophtalmie chez une chienne Labrador de 4 ans avant (a) et après traitement à la vitamine K (b) d'après (76).....	54
Figure 20 : Epistaxis unilatérale compatible avec une intoxication aux anti-vitamine K (Crédit photo : Frégis)	54
Figure 21: Voie de l'hémostase secondaire explorées par le TQ, le TCA et le TT (83)	57
Figure 22: Diagnostic différentiel des troubles de l'hémostase secondaire (84).....	58
Figure 23: Vue latérale du thorax d'un chien intoxiqué aux AVK, on note un rétrécissement trachéal en région cervicale et dans la partie crâniale du médiastin, et une opacification interstitielle (72).....	59
Figure 24: Prélèvements sanguins réalisés à J0	67
Figure 25: Protocole à suivre lors de la 2ème visite	68
Figure 26: Protocole à suivre lors de la 3ème visite	68
Figure 27: Colis permettant l'envoi des prélèvements sanguins (crédit photo personnel)	69
Figure 28: Colis permettant l'envoi des fèces (crédit photo personnel)	70
Figure 29: Les différentes présentation de la vitamine K1 (TVM®).....	70
Figure 30: Nombre d'échantillons reçus pour l'ensemble des chiens de l'étude.....	75
Figure 31: Résultat chien PIR-001 C	76
Figure 32: Résultat chien PIR-001 J	76
Figure 33: Résultat chien PIR-002	77
Figure 34: Résultat chien PIR-005 Arka	78
Figure 35: Résultat chien PIR-006	78
Figure 36: Résultat chien PIR-009	79
Figure 37: Résultat chien PIR-010	80
Figure 38: Résultat chien PIR-013	80
Figure 39: Résultat chien PIR-014	81
Figure 40: Résultat chien PIR-016	82
Figure 41: Résultat chien PIR-023	82
Figure 42: Résultat chien PIR-035	83
Figure 43: Résultat chien PIR-041	84
Figure 44: Résultat chien PIR-047	84
Figure 45: Molécules disponibles à la vente	87

Figure 46: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans le plasma.....	88
Figure 47: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans le plasma après extrapolation.....	88
Figure 48: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans les fèces	89
Figure 49: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans les fèces après extrapolation.....	89
Figure 50: Moyenne du pourcentage des formes cis et trans du difénacoum	92
Figure 51: Pourcentage de facteurs de coagulation à V1	98
Figure 52: Activité du facteur VII et X en fonction du TQ d'après (96).....	108

Table des tableaux

Tableau I: Principales zoonoses transmises par les rongeurs (9)	27
Tableau II: Structure des noyaux de base constituant les anti-vitamines K (22)	31
Tableau III: Molécules de première génération	32
Tableau IV: Molécules de deuxième génération.....	33
Tableau V: Molécules de deuxième génération « plus »	33
Tableau VI : Dose toxique des molécules anticoagulantes après une ingestion unique, d'après (15) (25) (28).....	34
Tableau VII: Propriétés physico-chimiques des molécules anticoagulantes (21) (22)	35
Tableau VIII: Proportions de formes cis et trans pour chaque produit mis sur le marché (30).....	36
Tableau IX : Distribution du coumafène dans les tissus chez le chien, 70h après ingestion (35)	37
Tableau X: Facteurs de coagulation et demi-vie chez le chien (42) (43) (44)	43
Tableau XI: Fréquence des signes cliniques observés suite à une intoxications aux anticoagulants (77)	55
Tableau XII: Examens complémentaires pouvant être réalisé lors d'intoxications aux AVK (52) (71) (28) (36)	59
Tableau XIII: Répartition des espèces concernées par les appels au CNITV, entre 2015 et 2017, dans le cadre des intoxications aux anticoagulants	63
Tableau XIV: Planning de l'étude	66
Tableau XV: Analyses réalisées à partir du plasma	71
Tableau XVI: Absence ou présence de symptômes lors de la visite d'inclusion	74
Tableau XVII: Molécules détectées dans le plasma.....	85
Tableau XVIII: Molécules détectées dans les fèces.....	86
Tableau XIX: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués au difénacoum	91
Tableau XX: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués à la bromadiolone	92
Tableau XXI: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués au brodifacoum.....	93
Tableau XXII: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués à la diféthialone	93
Tableau XXIII: Valeurs des concentrations de facteur de coagulation chez des chiens témoins	94
Tableau XXIV: Résultats des dosages des facteurs II, VII, IX et X	95
Tableau XXV: Avantages et inconvénients des matrices utilisées pour la détection la présence des AVK dans l'organisme	104

Liste des abréviations

ADNg : Acide désoxyribonucléique génomique

ADP : Adénosine diphosphate

ADR : Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route

AFAST : « Abdominal Focused Assessment with Sonography for Trauma »

AINS : Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens

AVK : Anticoagulants anti-vitamine K

CIVD : Coagulation IntraVasculaire Disséminée

CNITV : Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires

DL 50 : Dose létale 50

DO : Densité optique

FT : Facteur Tissulaire

FVW : Facteur de Von Willebrand

Gla : Acide glutamique

Glu : Carboxyglutamate

GP : Glycoprotéine

HPLC : « High performance liquid chromatography » (Chromatographie en phase liquide à haute performance)

INR : « International Normalized Ratio »

K : Quinone

KO : Epoxyde

KH2 : Hydroquinone

LC-MS-MS : « Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry »
(Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : « Polymérase Chain Reaction » (Amplification en chaîne par polymérase)

PDF : Produit de Dégradation de la Fibrine

PIVKA : « Proteins Induced by vitamin K Absence or Antagonists » (Protéines vitamine K dépendantes non gamma-carboxylées)

Ppb : « Part per billion » (Partie par million)

PCC : « Prothrombin Complex Concentrates » (Concentré de complexe prothrombinique)

PPSB : Prothrombine, Proconvertine, facteur Stuart, facteur antihémophilique B

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

RRAC : « Rodenticide Resistance Action Committee »

SEM : « Standard Error of the Mean » (Erreur standard de la moyenne)

SNP : « Single Nucleotide Polymorphism »

tPA : « Tissue plasminogen activator » (Activateur Tissulaire du Plasminogène)

TQ : Temps de Quick

TCA : Temps de Céphaline Activée

TT : Temps de Thrombine

TxA2 : Thromboxane A2

TFAST : « Thoracic Focused Assessment with Sonography for Trauma »

VKOR : Vitamine K époxyde réductase

VKORC1 : Vitamine K époxyde réductase complexe 1

w/w : « weight per weight »

Introduction

Les rongeurs ont très largement colonisé notre milieu de vie. Leur caractère anthropophile et leur grande capacité d'adaptation leurs ont permis de s'installer en zone rurale et urbaine, et de s'y développer. La cohabitation avec l'homme est délicate puisque les rongeurs ont la capacité de transmettre des maladies aussi bien à l'homme qu'aux animaux et sont à l'origine de dégâts matériels considérables. Des méthodes de lutte ont été mises en place afin de contrôler ces populations. Elles comprennent notamment l'utilisation des raticides anticoagulants. La toxicité de ces composés est importante et leur action est différée permettant ainsi de détourner le phénomène d'aversion alimentaire développé par les rats avec les toxiques à action immédiate. Les raticides sont subdivisés en deux catégories : les premières générations et les secondes générations, conçues suite à l'apparition de résistances chez les rats. L'utilisation de ces produits n'est pas sans conséquences pour les espèces non-cibles. De nombreux animaux sauvages sont victimes d'intoxications primaires ou secondaires, tout comme nos carnivores domestiques, souvent attirés par les appâts disposés dans notre environnement.

Les intoxications aux antivitamines K sont plutôt courantes chez les chiens et bien connues des vétérinaires. La prise en charge repose sur l'administration de l'antidote : la vitamine K1. A l'heure actuelle, la littérature ne propose aucune durée de traitement pour le traitement à la vitamine K1 bien que l'on sache que lors des intoxications aux molécules de seconde génération le traitement sera plus long.

Ainsi, il convient de s'interroger sur la durée du traitement à la vitamine K1 suivant la molécule incriminée et de chercher de nouvelles méthodes diagnostic nous permettant de connaître la molécule impliquée.

Dans un premier temps nous ferons quelques rappels sur les différentes générations d'anti-vitamine K, leur pharmacocinétique et leur mode d'action puis, dans un second temps, nous développerons le sujet des intoxications aux raticides anticoagulants avec la symptomatologie, le diagnostic et le traitement.

Nous finirons par l'analyse de notre étude multicentrique regroupant des cas d'intoxications aux raticides anticoagulant sur des chiens. Le but de l'étude est notamment de préciser la pharmacocinétique des différentes générations de molécule en utilisant des matrices différentes (plasma sanguin et fèces) et d'améliorer les méthodes diagnostic des intoxications.

I. Toxicologie des raticides anticoagulants

A. Importance de la lutte contre les rongeurs

1. Les rongeurs rencontrés dans nos milieux

Les rongeurs sont présents dans notre environnement, ils sont anthropophiles, c'est-à-dire qu'ils sont liés à l'homme.

Ils appartiennent à la classe des Mammifères, à l'ordre des Rongeurs, au sous-ordre des Myomorphes, à la famille des Muridés et enfin à la sous-famille des Murinés.

On distingue principalement trois espèces de rongeurs présents sur notre territoire : le rat noir (*Rattus rattus*), le rat surmulot (*Rattus norvegicus*) et la souris domestique (*Mus musculus domesticus*).

La souris domestique (Figure 1) est présente en France métropolitaine mais également en Corse et sur les îles de l'Atlantique. Elle occupe toutes les formes d'habitats humains et sont capables de circuler dans les sols, les meules de céréales, les entrepôts, etc. La souris domestique est une espèce omnivore. Elle se satisfait également de substances indigestes telles que la paraffine que l'on retrouve par exemple dans les chandelles (1).

Le rat noir (Figure 2), quant à lui, est présent dans toute la France, et plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, la Corse comprise. Il consomme essentiellement des aliments d'origine végétale mais peut, également, s'attaquer aux œufs et aux oisillons de certains oiseaux (1).

Enfin, le rat surmulot (Figure 3) se rencontre dans toute la France et présente un régime omnivore. Il consomme le contenu des silos, de la paille, du blé et même de la viande dans les entrepôts frigorifiques. Il peut également s'attaquer à des produits non comestibles tels que du papier et de la laine (1).



Figure 1 : *Mus musculus domesticus*



Figure 2 : *Rattus rattus*



Figure 3 : *Rattus norvegicus*

D'autres rongeurs, appartenant à la famille des Cricétidés, colonisent nos milieux, ce sont les campagnols. Ils sont représentés, en France, par le campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*) et le campagnol des champs (*Microtus arvalis*).

Le campagnol terrestre (Figure 4) creuse des galeries sur plusieurs niveaux et se nourrit des parties souterraines ou aériennes des végétaux. De cette façon, il détruit les cultures de céréales et les prairies de moyenne montagne. Les campagnols terrestres consomment les racines des arbres provoquant des dégâts importants en arboriculture et dans les plantations forestières (1).



Figure 4: *Arvicola terrestris*

Le campagnol des champs (Figure 5) est présent sur le territoire Français à l'exception de l'extrême ouest du massif armoricain et du sud de la région Rhône-Alpes. Il consomme les parties souterraines des végétaux et les graines encore vertes, occasionnant des dégâts considérables dans les luzernières et les champs de céréales (1).



Figure 5: *Microtus arvalis*

Le campagnol terrestre et le campagnol des champs sont les deux plus grands ravageurs de culture.

2. Les impacts du développement des populations de rongeurs

a) Impacts économiques

Les rongeurs commensaux sont la cause de préjudices matériels importants du fait de leur voracité, de leur nombre et de leur fécondité (1). Ils peuvent tout d'abord détériorer les cultures. En effet les rongeurs sont omnivores, ils se satisfont de graines, de fruits, de plantes, d'écorces d'arbres ou encore d'insectes. Les rongeurs grignotent les pieds de culture, sectionnent les plantes et les semis ou encore détruisent les racines. Ceci limite la croissance des pieds de culture, réduit leur survie en hiver et diminue leur valeur nutritionnelle. Les dommages sont proportionnels à l'effectif des rongeurs, ils peuvent se répandre sur des milliers d'hectares. Pour les agriculteurs, les pertes financières sont considérables. En effet, en 2007 en Allemagne on estime que la perte de matière première s'élève à 11%, ce qui correspond à 130 millions d'euros sur l'année (2). Depuis les années 1970, des pullulations de campagnols terrestres sont observées sur les prairies de moyenne montagne en Franche-Comté et en Auvergne. Elles seraient responsables d'une perte de 50% en moyenne de la qualité et de la quantité de fourrage (3). En 2011, ces pullulations sont également observées en Bourgogne (4). Cette perte de matière première engendre également des conséquences pour les éleveurs puisqu'ils sont amenés à rentrer, de manière précoce, leurs troupeaux à l'étable depuis les pâtures et à acheter du fourrage de substitution.

De plus, les rongeurs peuvent détruire les denrées alimentaires stockées soit par contact direct en consommant les aliments, soit par contact indirect en souillant les produits via les poils, les fèces ou les urines (1). On considère qu'un rat rend impropre à la consommation 250 à 300 grammes de blé par jour. De plus, la dégradation par les rats, des emballages des produits

stockés, favorise le développement de champignons, de micro-organismes ou d'insectes des produits stockés.

Enfin les rats dégradent également du matériel tels que les câbles électriques, des machines, ou encore des installations routières comme des ponts. On dénombre plusieurs accidents liés au mauvais état de ces structures comme l'illustre l'accident de train survenu à Pau en 2014. Les rongeurs avaient, en effet, grignoté les gaines d'isolement des câbles, modifiant ainsi la signalisation lumineuse (5).

b) *Impacts sur la santé humaine*

Les rongeurs sont en contact étroit avec l'espèce humaine et sont à l'origine de maladies qui concernent aussi bien les urbains (égoutiers, éboueurs, etc.) que les ruraux (agriculteurs, etc.). Les rats sont vecteurs de zoonoses. Elles sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des maladies transmissibles naturellement d'un animal vertébré à l'homme et vice versa (6). Il faut également noter que les rongeurs peuvent transmettre des maladies à nos animaux domestiques ainsi qu'aux animaux d'élevage.

L'impact des rongeurs sur la santé humaine est connu depuis fort longtemps. La peste bubonique, causée par la bactérie *Yersinia pestis* et transmise par les rongeurs via la puce, a décimé un tiers de la population entre le XIV^{ème} et XVI^{ème} siècle. C'est, à cette époque, la pandémie la plus mortelle en Europe. Elle n'a pas été éradiquée et l'OMS dénombre, à l'heure actuelle, entre 1000 et 3000 cas de peste bubonique par an (7).

Les rongeurs peuvent transmettre des agents infectieux par différentes voies (Tableau I) (1). Tout d'abord par voie directe, lors d'effraction de la barrière cutanée de l'homme, par morsure (pasteurellose) ou plaie minime (tularémie) et un contact avec des urines ou fèces de rongeurs porteurs d'un pathogène. Une étude réalisée au Centre Départemental d'Urgence de New York, répertorie les cas de morsure présentés entre 2003 et 2006. Sur les 24 343 patients présentés pour morsure 7% ont été mordus par des rongeurs (8). L'agent pathogène peut également pénétrer dans l'organisme par simple contact avec une muqueuse saine (leptospirose).

La contamination se fait également par voie indirecte, via l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminée (échinococcose, trichinose) ou l'ingestion de particules mises en suspension après la manipulation d'éléments souillés par des urines ou des déjections (Fièvre hémorragique, fièvre Q). Enfin la transmission peut se faire via un vecteur piqueur tel que les arthropodes.

Tableau I: Principales zoonoses transmises par les rongeurs (9)

Maladies	Agents infectieux
Bactériennes	Peste (<i>Yersinia pestis</i>) Leptospirose (<i>Leptospira spp</i>) Pasteurellose (<i>Pasteurella spp</i>) Fièvre Q (<i>Coxiella burnetii</i>) Tularémie (<i>Francisella Tularensis</i>) Salmonellose (<i>Salmonella spp</i>) Listériose (<i>Listeria spp</i>) Campylobacteriose (<i>Campylobacter spp</i>) Etc.
Virales	Rage (<i>Lyssavirus</i>) Fièvre hémorragique avec syndrome rénale (<i>Hantavirus</i>) Fièvre hémorragique avec syndrome pulmonaire (<i>Sin Nombre virus</i>) Etc.
Parasitaires	Babésiose (<i>Babesia spp</i>) Maladie de lyme (<i>Borelia burdogferi</i>) Coccidiose (<i>Coccidia spp</i>) Cryptosporidiose (<i>Cryptosporidium parvum</i>) Sarcosporidiose (<i>Sarcocystis spp</i>) Toxoplasmose (<i>Toxoplasma gondii</i>) Trichinellose (<i>Trichinella spp</i>) Angiostrongylose (<i>Strongyloides spp</i>) Typhus murin (<i>Rickettsia typhi</i>) Etc.

Les rongeurs engendrent des pertes économiques considérables et sont néfastes pour la santé humaine et animale, c'est pourquoi, depuis des décennies, des méthodes de lutttes sont mises en place pour limiter la prolifération de ces individus.

3. Méthodes de lutte contre les rongeurs

L'élimination des rongeurs anthropophiles passe par la lutte défensive qui vise à empêcher le développement de nouvelles populations de rongeurs et une lutte offensive qui vise à éliminer les populations initialement présentes.

La lutte défensive repose sur des mesures d'hygiène des locaux de stockage des denrées et une bonne gestion des déchets. En effet, les rongeurs se satisfont de détritux, il est donc primordial de garder les lieux de stockage des denrées et des déchets propres. Lors de la grève des éboueurs à Marseille, en 2017, les populations de rongeurs se sont très rapidement multipliées (10). De plus, lors de la construction de nouveaux bâtiments il faut penser à une

conception des locaux de façon que à ce que les rongeurs ne puissent pas y pénétrer. Ces mesures sont difficiles à mettre en place sur des vieux bâtiments, il faut donc y penser lors de la construction de ceux-ci.

La lutte offensive comprend : les répulsifs, les pièges, la lutte biologique et les toxiques. Les répulsifs sont composés d'huile minérale additionnée d'huile de poisson que l'on pulvérise en bord de parcelles. Cette méthode est peu efficace, aucune molécule n'est homologuée en France. Des dispositifs mécaniques tels que les pièges, des tapettes ou des plaques de glue sont utilisés (Figure 6). L'avantage de cette méthode est qu'elle ne présente aucune toxicité pour l'homme ou les animaux. Cependant, cette stratégie n'est applicable que sur des petites populations de rongeurs.

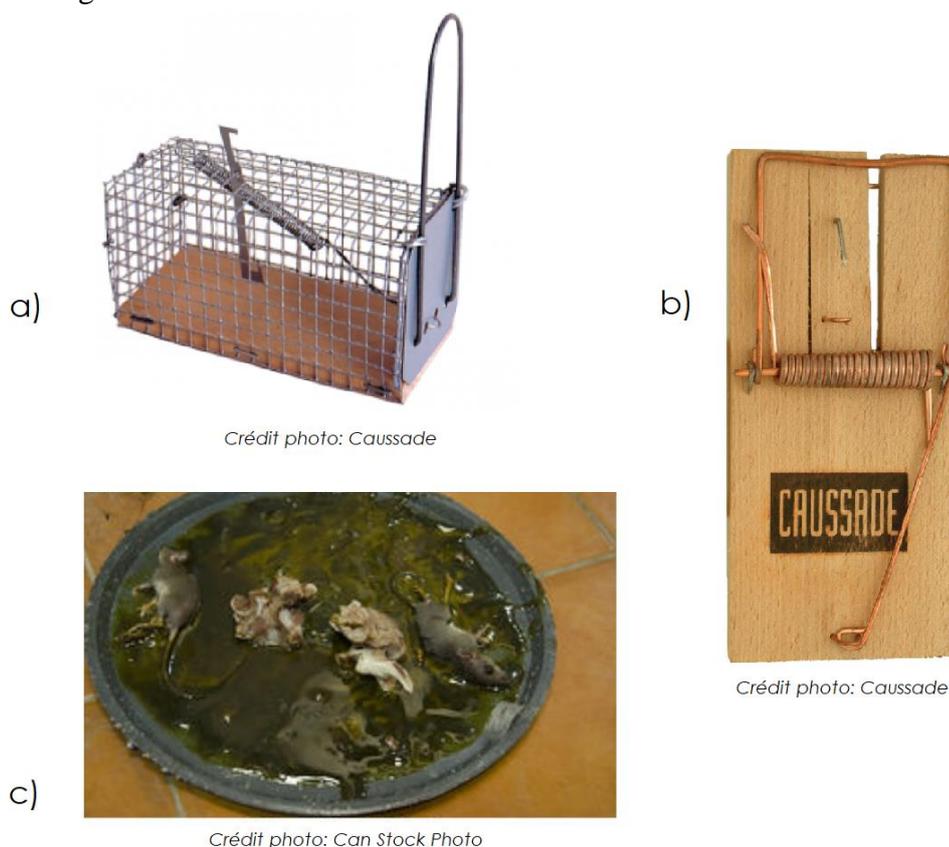


Figure 6 : Nasse à souris (a), tapette à souris (b), plaque de glue (c)

On retrouve également la lutte biologique qui consiste en la dissémination d'un germe pathogène capable de détruire une population de rongeurs. Les pathogènes utilisés sont des bactéries du groupe *Salmonella* ou des parasites tels que les Nématodes. Cette méthode étant dangereuse pour l'homme et les espèces non cibles, elle n'est plus utilisée aujourd'hui (11). La lutte biologique comprend également l'introduction de prédateur naturel du rat comme les chouettes effraies (12). La dernière catégorie correspond aux toxiques. Ce sont les plus utilisés aujourd'hui dans la lutte contre les rongeurs. Ces molécules font l'objet d'une procédure d'homologation avant leur mise sur le marché. De plus, une législation a été mise en place pour codifier les conditions de vente et d'utilisation. Les toxiques sont divisés en deux catégories : les raticides non anticoagulants et les raticides anticoagulants.

Les raticides non anticoagulants comprennent l'alphachloralose et le phosphure de zinc. L'alphachloralose est un meilleur souricide que raticide. Il provoque une hypothermie, des signes neurologiques tels que des convulsions, un coma pouvant aller jusqu'à la mort de l'animal, de l'ataxie, un nystagmus, de l'amaurose, du ptyalisme ou encore de l'hyporéflexie. L'alphachloralose peut également induire des signes gastro-intestinaux (13).

Le phosphure de zinc a été interdit en 1981 puis réintroduit sur le marché en septembre 2017 sous la forme d'appâts prêts à l'emploi. Il permet la régulation des populations de campagnols (11). Le phosphure de zinc est hydrolysé au contact des sucs gastriques et de la phosphine est produite, sous forme gazeuse. La phosphine est une toxine respiratoire qui inhibe le cytochrome C oxydase et empêche la respiration oxydative mitochondriale. Ceci peut entraîner une insuffisance rénale, une insuffisance hépatique et la formation d'un œdème pulmonaire (14).

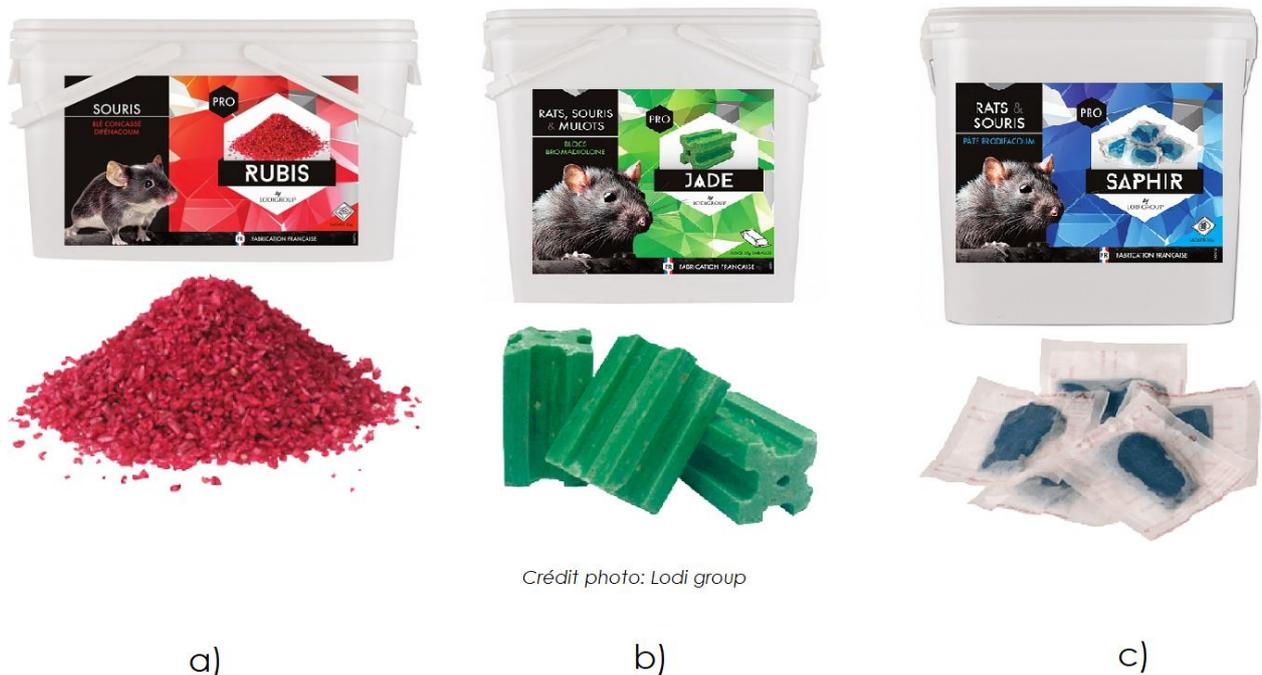
Les raticides anticoagulants fonctionnent aussi bien sur les souris que sur les rats. Ils provoquent des hémorragies internes, spontanées, responsables de la mort de l'animal. Ces molécules sont très largement utilisées aujourd'hui car elles présentent plusieurs avantages. Leur principal atout est leur délai d'action. En effet les anti-vitamines K (AVK) agissent plus de 48h après l'ingestion du produit. Ainsi les rats n'associent pas la mort de leurs congénères à l'ingestion du raticide, il continue d'être consommé par la population de rongeurs et l'utilisateur contourne le phénomène d'aversion alimentaire. De plus, les rongeurs sont craintifs et vont s'avérer méfiant vis-à-vis d'une nouvelle source alimentaire. La lutte nécessite donc le maintien des appâts pendant plusieurs semaines dans l'environnement avant d'observer un résultat. En incorporant les anticoagulants dans des appâts, il est facile de les rendre appétents pour les rongeurs, en dépit de leur néophobie. Enfin, on dispose d'un antidote qui permet de traiter les intoxications accidentelles des espèces non-cibles (15).

Ce sont ces molécules qui nous intéresseront par la suite.

4. Présentation commerciale des produits contenant des AVK

Les raticides anticoagulants existent sous plusieurs formes, permettant à l'utilisateur de choisir celle qui correspond le mieux à la situation dans laquelle il va l'utiliser (Figure 7). Les raticides peuvent se présenter sous la forme de céréales enrobées, ou de formulation prêtes à l'emploi comme des céréales concassées imprégnées d'anticoagulants, des blocs de paraffine ou encore des pâtes composées à partir de déchets industriels (farine, graisse végétale). Il existait également, auparavant, des poudres de pistes, lorsque le rongeur se déplaçait dans un endroit contenant de la poudre celle-ci se déposait sur ses pattes et il l'ingérait en se léchant les membres.

Les céréales, les blocs et les pâtes contiennent entre 25 et 50 ppm (0,0025% à 0,005% w/w) de difénacoum, brodifacoum ou bromadiolone. Certains appâts de brodifacoum ont une concentration de 10 ppm. Les appâts de diféthialone contiennent 25 ppm de principe actif. Concernant les molécules de première génération, les appâts de coumatétralyl présentent généralement une concentration de 375 ppm et ceux de chlorophacinone 50 ppm (16) (17).



Crédit photo: Lodi group

Figure 7 : Céréales concassées (a), blocs de paraffine (b), pâte (c)

Ces produits étant dangereux pour l'homme et l'animal il existe des dispositifs permettant de sécuriser les appâts tels que des boîtes à appât. Du fait de sa taille, seul le rat peut s'introduire dans la boîte contenant le raticide. De plus, un agent amérissant, le benzoate de dénatonium (18), est ajouté à l'appât afin qu'il ne soit pas ingéré accidentellement par les enfants.

B. Propriétés des AVK

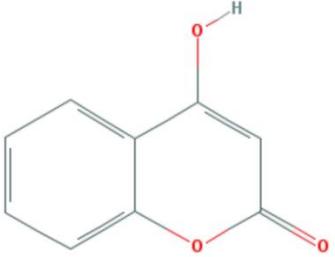
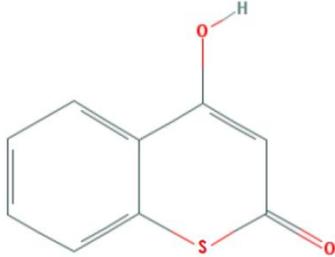
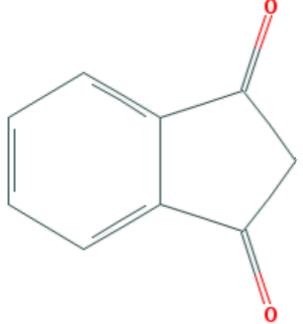
1. Les différentes familles d'AVK

Les raticides anticoagulants ont été découverts en 1930 aux Etats-Unis par Karl Paul Link (19) lors de recherches ayant pour but de déterminer l'origine de syndrome hémorragique chez des veaux. Ceux-ci étaient nourris avec du trèfle ensilé contenant du dicoumarol. Les chercheurs ont, par la suite, créé un dérivé synthétique de ce composé, la warfarine, afin de traiter les thromboses chez l'homme. Enfin la molécule a été utilisée pour ses propriétés rodenticides à partir des années 40 suite à l'initiative d'une compagnie pharmaceutique Britannique (20) (21).

a) Classification chimique

Les molécules anti-vitamine K sont classées suivant leur structure chimique. Il existe trois noyaux qui constituent la structure de base des AVK : le noyau 4-hydroxycoumarine, le noyau 4-hydroxythiocoumarine et le noyau indane-1,3-dione (Tableau II). Chaque molécule dérive d'un noyau, on définit alors trois familles d'anti-vitamines K.

Tableau II: Structure des noyaux de base constituant les anti-vitamines K (22)

4-hydroxycoumarine	4-hydroxythiocoumarine	Indane-1,3-dione
		
<p><u>AVK dérivant du noyau 4-hydroxycoumarine :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Warfarine (coumafène) - Coumatétralyl - Bromadiolone - Difénacoum - Brodifacoum - Flocoumafène 	<p><u>AVK dérivant du noyau 4-hydroxythiocoumarine :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Diféthialone 	<p><u>AVK dérivant du noyau indane-1,3-dione :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Chlorophacinone

b) Classification toxique

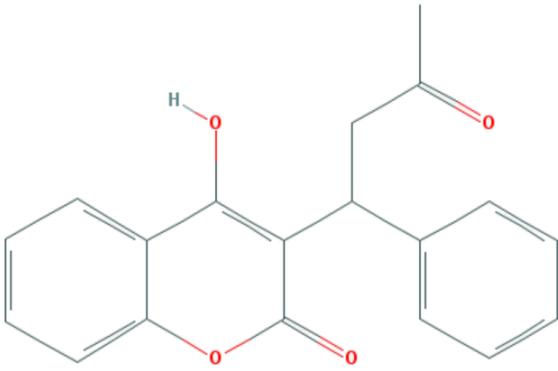
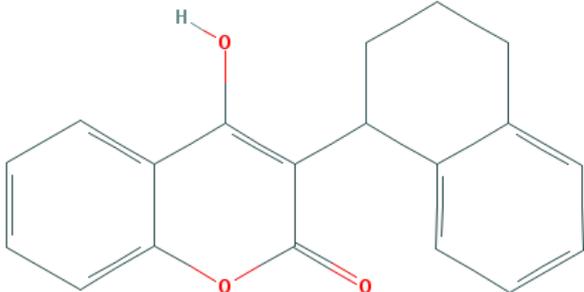
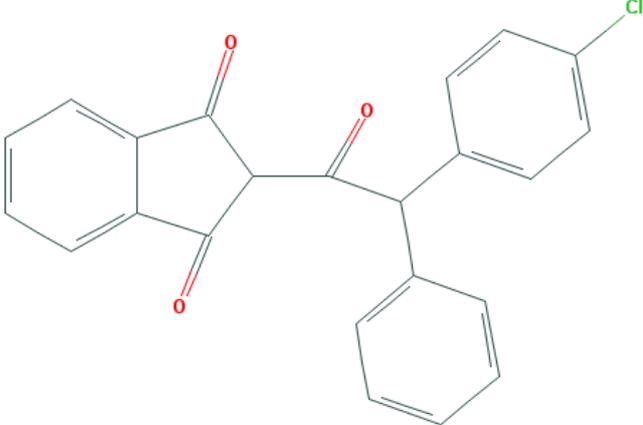
La classification des molécules anti-vitamines K se fait également selon la toxicité des composés et leur rémanence hépatique. Ceci conditionne la durée de traitement. Ainsi on distingue deux familles :

- La **première génération**
- La **deuxième génération**

(1) Les molécules de première génération

Les molécules de 1^{ère} génération (Tableau III) présentent une toxicité faible et nécessitent une ingestion répétée du toxique pour que celui-ci agisse sur l'organisme. L'efficacité du raticide n'est donc pas optimale sur certains rongeurs. La famille des molécules de 1^{ère} génération est composée de la warfarine (aussi appelée coumaphène), du coumatétralyl et de la chlorophacinone.

Tableau III: Molécules de première génération

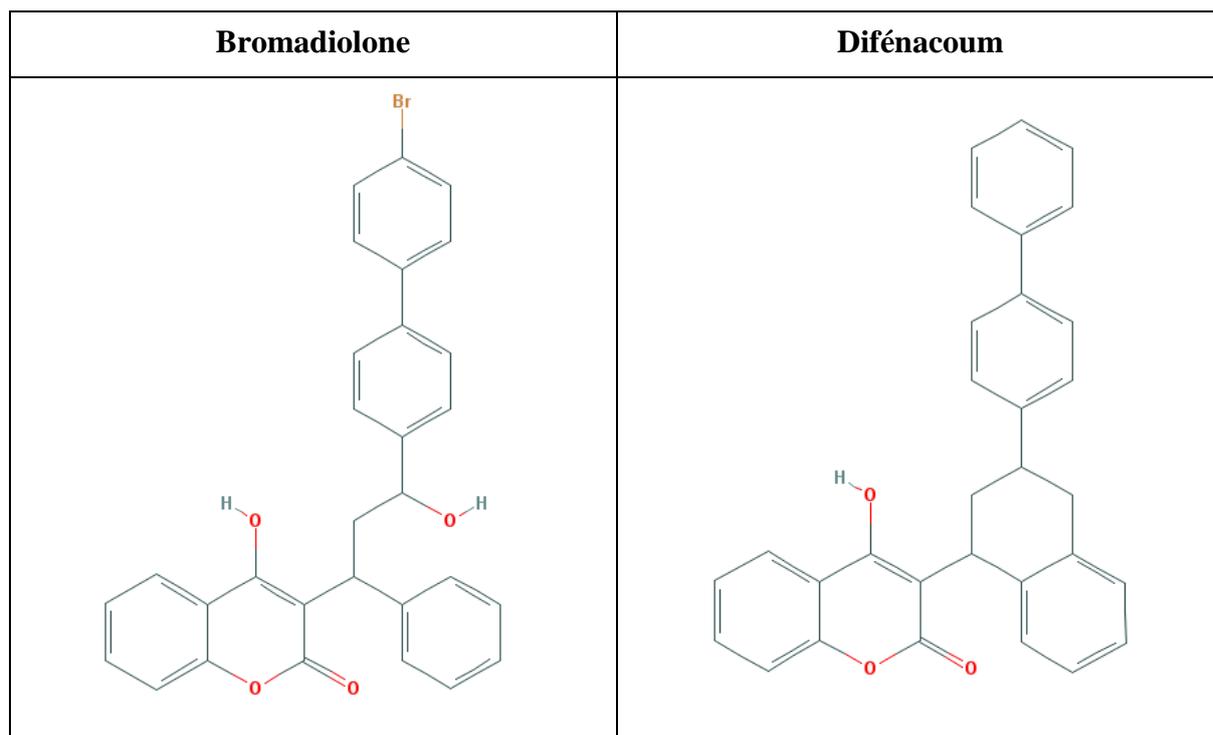
Warfarine / Coumaphène	Coumatétralyl
	
Chlorophacinone	
	

La warfarine a été le premier anticoagulant utilisé dans les années 1950. En médecine humaine, la warfarine est utilisée pour la prévention et le traitement des troubles vasculaires thromboemboliques tels que la thrombose veineuse, les infarctus du myocarde et les embolies pulmonaires (23). Dans le cadre de la lutte contre les rongeurs, des résistances au coumafène ont été démontrées, chez le rat brun, en Ecosse en 1958 (24) puis dans d'autres pays par la suite. Des phénomènes de résistances ont également été observés pour les autres molécules de cette classe. Ceci a motivé l'apparition de nouveaux produits sur le marché : les molécules de seconde génération.

(2) Les molécules de deuxième génération

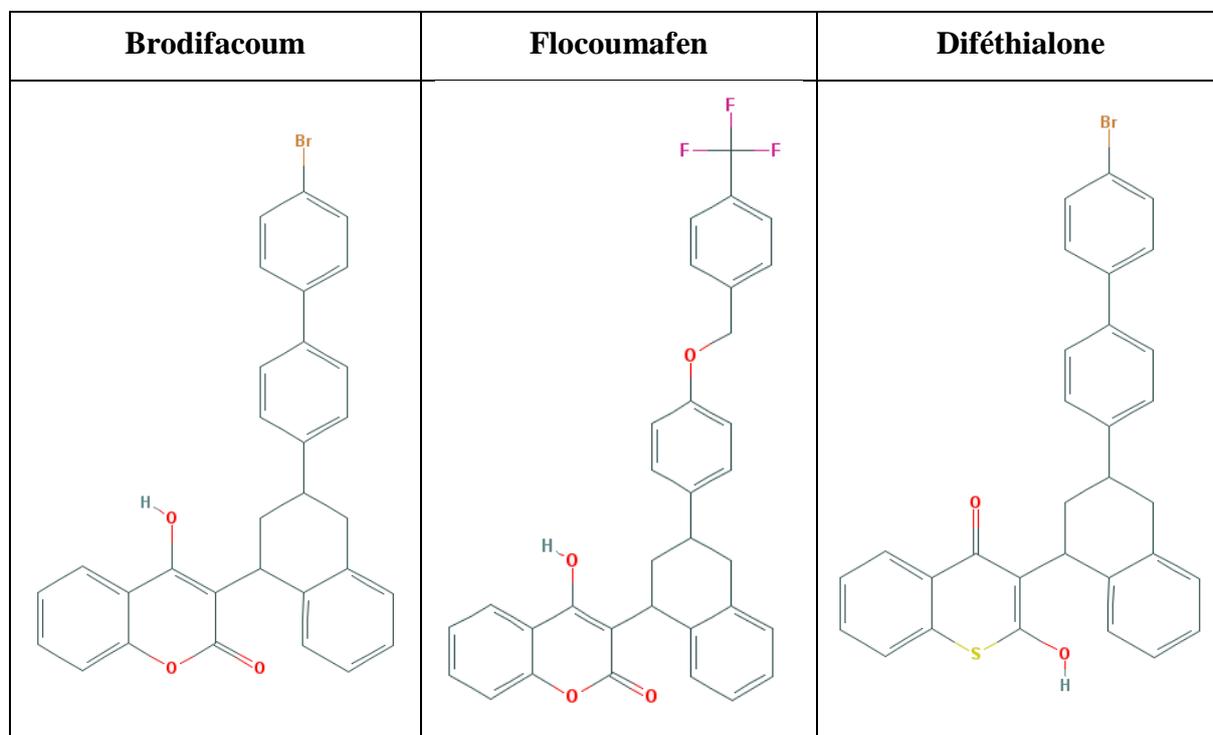
Les molécules de 2^{ème} génération (Tableau IV) ont une toxicité plus importante. Une ingestion unique suffit pour atteindre la dose toxique et engendrer des symptômes (25). Ces molécules permettent d'accroître l'efficacité du raticide mais augmente aussi sa dangerosité pour les espèces non-cibles (26) (27). La famille des molécules de 2^{ème} génération contient la bromadiolone, le difénacoum, le brodifacoum, le flocoumafène et la diféthialone. Elles sont aujourd'hui beaucoup plus utilisées que les molécules de 1^{ère} génération puisqu'elles présentent moins de phénomène de résistance.

Tableau IV: Molécules de deuxième génération



On distingue, dans les molécules de 2^{ème} génération, trois molécules dont la toxicité est encore plus forte, ce sont : le brodifacoum, le flocoumafén et la diféthialone (Tableau V). Pour certains auteurs ces trois molécules constituent une troisième génération d'anti-vitamines K.

Tableau V: Molécules de deuxième génération « plus »



La dose létale 50 (DL 50) correspond à la dose de toxique ingérée permettant la mort de 50% de l'effectif total. Elle permet de caractériser la toxicité d'une molécule. Plus la DL50 est faible plus le produit est efficace. Il en est de même pour la dose toxique. Comme le montre le Tableau VI, les molécules de seconde génération présentent une dose toxique plus faible que les molécules de première génération, la dose ingérée par l'animal pour atteindre le seuil de toxicité est donc moins importante pour les molécules de seconde génération. Cependant la DL50 et la dose toxique ne sont pas les seuls critères dont il faut tenir compte pour juger de l'efficacité des raticides anticoagulants.

Tableau VI : Dose toxique des molécules anticoagulantes après une ingestion unique, d'après (15) (25) (28)

Génération	Molécule	Formule chimique	Dose toxique (mg/kg)		
			Rat	Chien	Chat
1 ^{ère} génération	Warfarine	C ₁₉ H ₁₆ O ₄	3-186	20-300	5-50
	Coumatétralyl	C ₁₉ H ₁₆ O ₃	5-25	35	50
	Chlorophacinone	C ₂₃ H ₁₅ ClO ₃	2,1-6,26	50-100	50-100
2 ^{ème} génération	Bromadiolone	C ₃₀ H ₂₃ BrO ₄	0,5-1,125	10-25	> 25
	Difenacoum	C ₃₁ H ₂₄ O ₃	1,8-7	25-50	100
2 ^{ème} génération +	Brodifacoum	C ₃₁ H ₂₃ BrO ₃	0,26	0,25-4	25
	Flocoumafén	C ₃₃ H ₂₅ F ₃ O ₄	0,25-0,4	0,025-0,75	>10
	Diféthialone	C ₃₁ H ₁₆ O ₃	0,56	4	16

Dans le cadre de cette thèse, nous retiendrons la classification des molécules anticoagulantes en deux générations.

2. Propriétés physico-chimiques des AVK

a) Caractéristiques physico-chimiques des AVK

Les AVK sont tous des dérivés de synthèse. Ces molécules sont stables aux températures et degrés de luminosité et d'humidité rencontrés dans les milieux nécessitant l'utilisation de raticides. Elles sont généralement inodores et insipides. Les caractéristiques physico-chimiques des AVK permettent leur identification dans les produits biologiques, ces caractéristiques sont regroupées dans le Tableau VII.

Tableau VII: Propriétés physico-chimiques des molécules anticoagulantes (21) (22)

Nom	Formule chimique	Poids moléculaire (g/mol)	Aspect physique	Point de fusion (°C)	Solubilité	
					Soluble	Moyennement soluble / insoluble
Warfarine	C ₁₉ H ₁₆ O ₄	308,3	Cristaux blancs	161	Méthanol Ethanol Isopropanol	Benzène Cyclohexane
Coumatétralyl	C ₁₉ H ₁₆ O ₃	292,3	Cristaux jaunâtre	172-176	Acétone Eau Alcool	Benzène Toluène
Chlorophacinone	C ₂₃ H ₁₅ ClO ₃	374,8	Poudre cristallisée jaunâtre	143	Méthanol Ethanol Acétone Acétate d'éthyle Benzène	Eau
Bromadiolone	C ₃₀ H ₂₃ BrO ₄	527,4	Poudre non cristalline blanche / jaunâtre	198,3-199,8	Acétone Acétate d'éthyle Chloroforme Diméthylformamide	Eau Hexane Ether
Difénacoum	C ₃₁ H ₂₄ O ₃	444,5	Poudre cristalline incolore à blanc	215-217	Acétone Chloroforme	Eau Benzène Alcool
Brodifacoum	C ₃₁ H ₂₃ BrO ₃	523,4	Poudre blanche à jaunâtre	228-232	Acétone Dichlorométhane	Eau Benzène
Diféthialone	C ₃₁ H ₂₃ BrO ₂ S	539,5	Poudre blanche à jaunâtre	233-236	Diméthylformamide Chloroforme	Eau Hexane Alcool Acétone
Flocoumafen	C ₃₃ H ₂₅ F ₃ O ₄	542,6	Solide blanchâtre	181-191 (<i>cis</i>) 163-166 (<i>trans</i>)	Acétone Alcool Chloroforme Dichlorométhane	Eau

b) *Caractéristiques stéréochimiques des AVK*

Les anticoagulants de seconde génération possèdent tous deux atomes de carbone asymétriques, de ce fait les produits mis sur le marché sont un mélange de diastéréoisomères. Une analyse du difénacoum par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) met en évidence deux pics, correspondant aux isomères cis et trans ayant des configurations spatiales différentes (29). Pour rappel, les configuration cis et trans dépendent de la localisation des substrats par rapport au plan du cycle de la molécule. Les deux composés sont ensuite purifiés puis analysés par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) afin d'en connaître la stéréochimie. En effet, chaque carbone asymétrique présente une configuration absolue déterminée par l'ordre des substituants portés par le carbone, on distingue la configuration R et S. La forme trans correspond aux molécules ayant une configuration (1R, 3R) ou (1S, 3S). La forme cis correspond aux composés ayant une configuration (1R, 3S) ou (1S, 3R) (30). Chaque molécule de seconde génération possède des formes cis et des formes trans. La Figure 8 représente deux isomères du difénacoum, les carbones asymétriques sont représentés par une étoile.

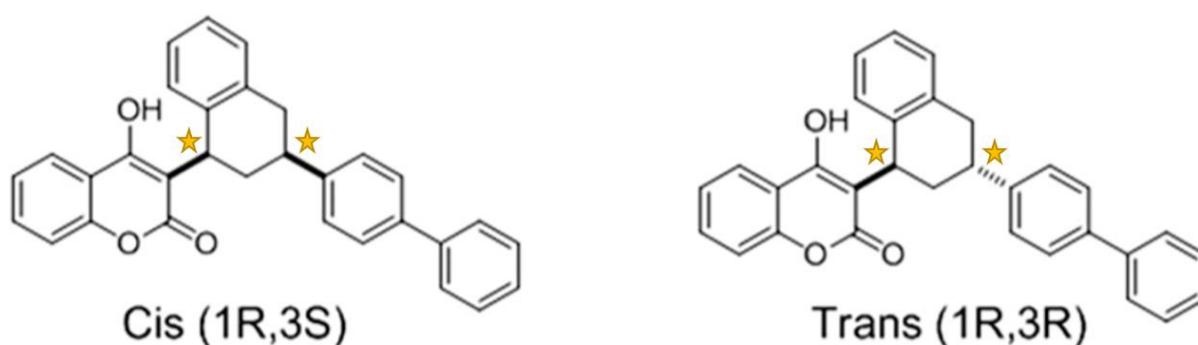


Figure 8: Exemple d'isomères cis et trans du difénacoum (30)

Les produits disponibles sur le marché présentent des proportions de composés cis et trans différentes suivant les molécules. Ce ne sont jamais des mélanges racémiques. Le produit est toujours enrichi en un isomère. Les ratios des formes cis et trans sont détaillés dans le Tableau VIII ci-dessous.

Tableau VIII: Proportions de formes cis et trans pour chaque produit mis sur le marché (30)

Molécule de 2 nd e génération	Forme trans	Forme cis
Flocoumafen	20-50%	50-80%
Difénacoum		
Brodifacoum		
Bromadiolone	Plus de 70%	Moins de 30%
Diféthialone	Moins de 30%	Plus de 70%

Les anticoagulants sont, dans l'ensemble, des molécules peu solubles dans l'eau. Les caractéristiques physico-chimiques de ces molécules conditionnent la pharmacocinétique des anticoagulants dans l'organisme.

3. Pharmacocinétique des AVK

a) Absorption

Les anticoagulants sont des acides faibles, dont le pKa varie entre 4,5 et 5, et des molécules polycycliques à caractère lipophile. L'absorption des anticoagulants se fait par diffusion passive au niveau des segments proximaux du tube digestif, et en particulier dans le duodénum. Ces deux caractéristiques sont à l'origine d'une forte biodisponibilité avoisinant les 100% lors d'ingestion par voie orale, chez toutes les espèces. Le pic plasmatique est atteint au bout d'une heure (31).

b) Diffusion

Après ingestion, les anticoagulants diffusent dans le sang par absorption. Ils sont transportés jusqu'au foie via la veine porte et les chylomicrons. Ils s'accumulent dans le foie (32).

Une fois dans le sang, les anti-vitamines K se lient très fortement aux protéines plasmatique (98 à 99%), la fraction libre, autrement dit, la fraction active représente seulement 1 à 2 % (33). La fixation protéique est réversible, de ce fait, lors de l'administration d'autres molécules, telles que les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou les barbituriques, celles-ci se fixent à l'albumine et déplacent l'équilibre. La fraction libre d'anticoagulant dans le sang augmente.

La fraction libre des anti-vitamines K est distribuée majoritairement dans le foie puis dans les reins (34). Les compartiments présentant les plus faibles taux d'AVK sont le cerveau, les muscle et le sang (21). En 1991, THIJSEN et BAARS (35) incorporent du carbone radioactif dans les molécules de warfarine permettant ainsi de connaître leur distribution dans l'organisme. La répartition du coumafène dans les tissus est indiquée dans le Tableau IX.

Tableau IX : Distribution du coumafène dans les tissus chez le chien, 70h après ingestion (35)

Tissus	Dose radioactivité (dpm / g tissu)
Foie	93
Rein	27,4
Poumon	8,0
Rate	7,2
Muscle	2,8
Cerveau	1,0
Coeur	3,2
Plasma	2,3

Le stockage important des molécules de seconde génération dans le foie est responsable d'une augmentation du risque d'écotoxicité par rapport aux premières générations. En effet, plus la quantité d'AVK stockée dans le foie de la proie est importante plus le prédateur risque d'en ingérer, et par conséquent de s'intoxiquer (34).

Les anticoagulants pénètrent dans les hépatocytes par deux voies (Figure 9) : par diffusion à travers la membrane plasmique et par fixation à un récepteur membranaire. Lors de ce processus, l'AVK se fixe premièrement à l'albumine puis, le complexe ainsi formé, se fixe au récepteur transmembranaire de l'hépatocyte et permet l'entrée de la molécule dans le cytoplasme.

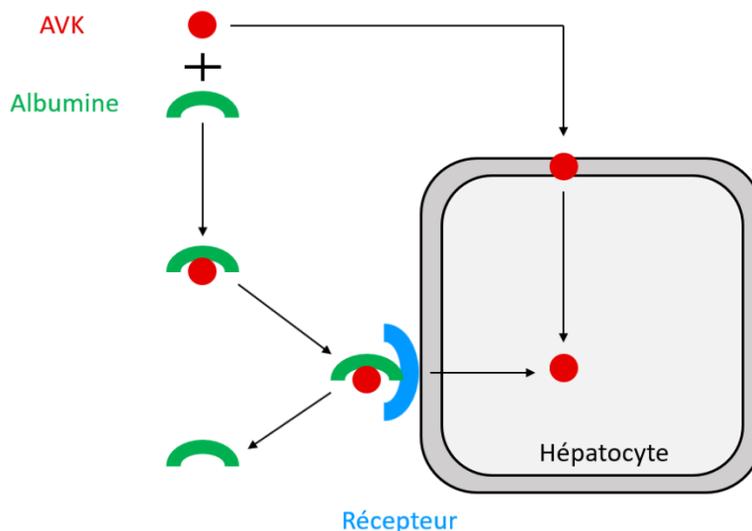


Figure 9: Schéma d'entrée des anticoagulants dans les hépatocytes

c) Métabolisme

Les biotransformations sont effectuées au niveau du foie. Seule une faible portion du toxique ne subit aucune modification. Le métabolisme est en grande majorité assuré par la famille d'enzyme des cytochromes P450. La warfarine est hydroxylée par les enzymes du réticulum endoplasmique des hépatocytes, le composé formé est inactif (31).

Les molécules de seconde génération sont peu métabolisées. Certains médicaments, comme le fluconazole, peuvent augmenter la demi-vie des AVK en inhibant les cytochromes P450 (18).

Les AVK de seconde génération persistent plus longtemps dans le foie que les AVK de première génération car ils sont plus lipophiles. Ceci conditionne leur élimination. En effet les molécules de seconde génération présentent une courbe d'élimination biphasique : une première partie est éliminée dans les heures suivant l'ingestion du toxique et une seconde partie est relarguée, plus tard, par le foie puis éliminée (36). Cette persistance hépatique contribue à la forte dangerosité des molécules de seconde génération.

d) Elimination de l'organisme

Les AVK quittent le foie via la veine hépatique et retournent dans la circulation sanguine. Les anticoagulants sont éliminés sous forme de conjugués inactifs dans les fèces via la bile (70%) ou dans les urines (32). Les métabolites excrétés par la bile peuvent subir un cycle entéro-hépatique par réabsorption. Ceci prolonge leur activité toxique, ainsi l'élimination totale du produit dans l'organisme peut être très longue.

La circulation des AVK dans l'organisme est résumé sur la Figure 10.

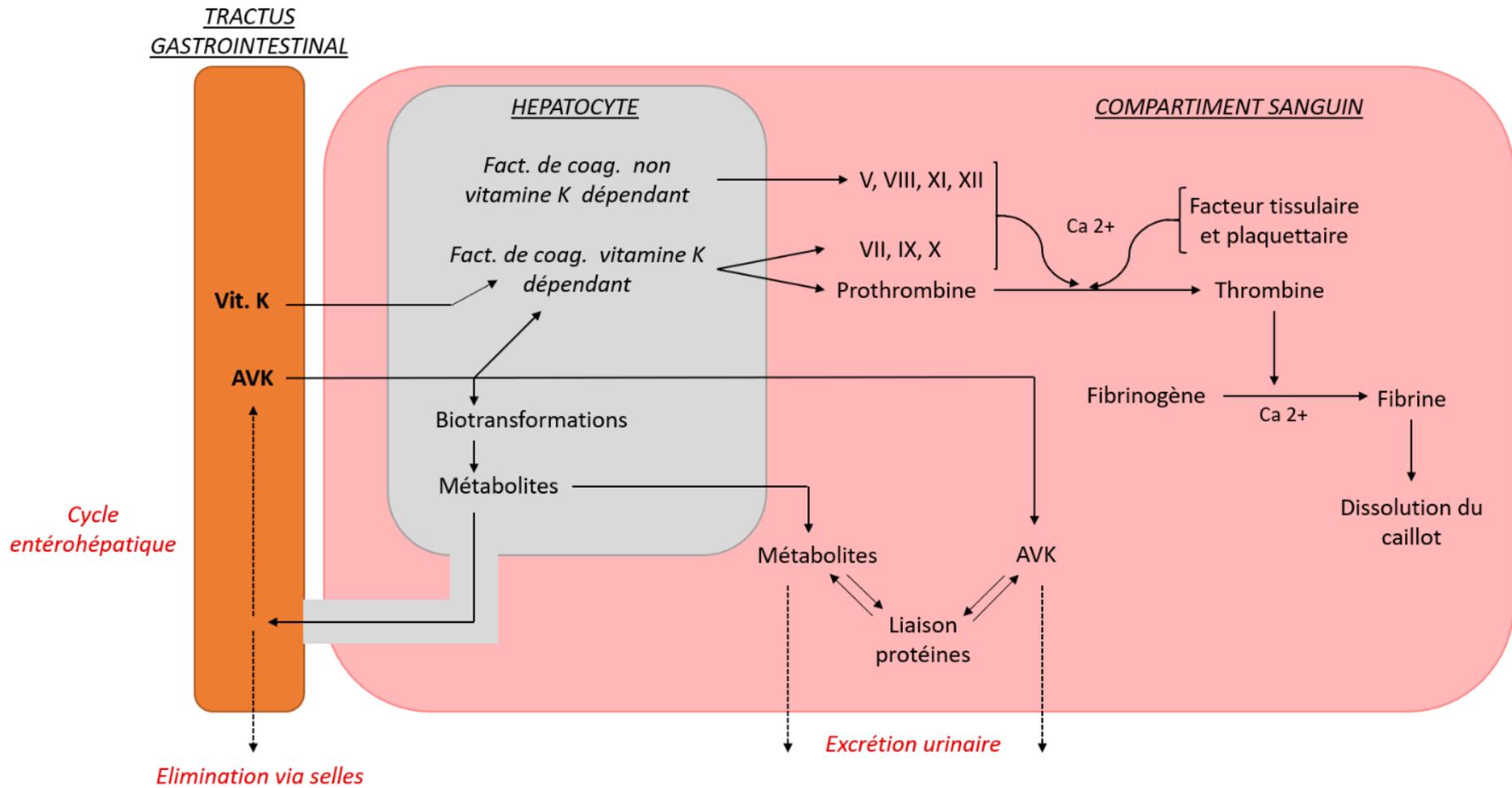


Figure 10: Schéma bilan de la circulation des AVK dans l'organisme (32) (37)

e) Particularité de l'élimination des molécules de seconde génération

Chez le rat, l'élimination des diastéréoisomères des molécules de seconde génération a été étudiée (Figure 11). L'analyse comparative de la persistance des forme cis et trans du difénacoum dans le tissu hépatique révèle qu'un des deux diastéréoisomère possède une demi-vie plus courte que l'autre. En effet, la demi-vie hépatique est de 83h pour la forme cis et 14h pour la forme trans (29).

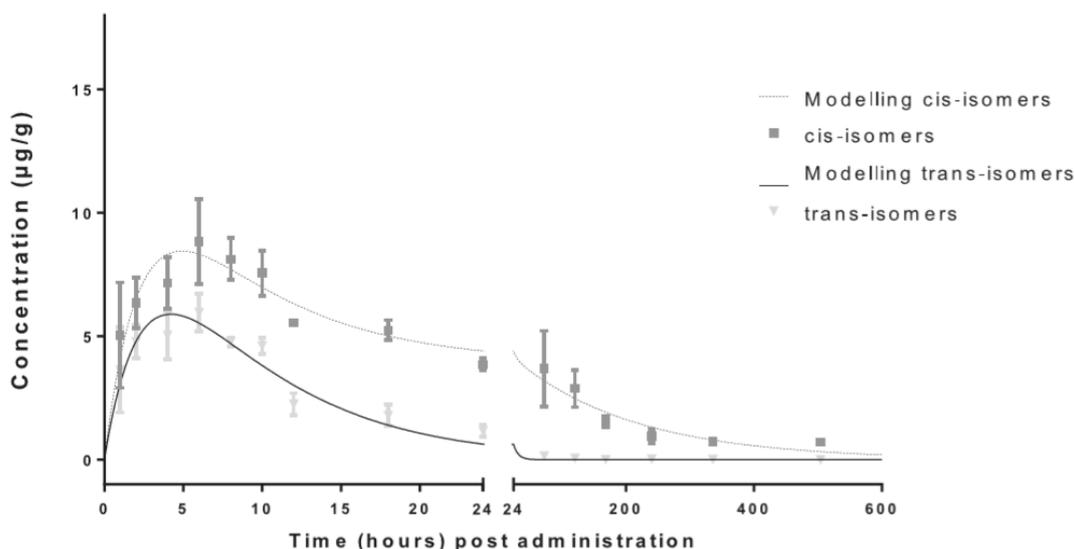


Figure 11: Elimination des isomères cis et trans du difénacoum dans le foie (29)

Une deuxième étude montre des résultats similaires pour les autres molécules de la seconde génération : l'isomère trans est éliminé plus rapidement pour la diféthialone et le brodifacoum et l'isomère cis est plus rapidement éliminé pour la bromadiolone et le flocoumafén.

L'activité toxique des AVK pourrait ainsi être réduite en introduisant une troisième génération de raticide anticoagulant, enrichie en l'isomère le moins rémanent (30).

C. Mode d'action des AVK

Les anti-vitamines K interfèrent avec le mécanisme de coagulation et provoquent des hémorragies spontanées. Afin de comprendre le mode d'action de ces composés nous allons détailler le mécanisme de l'hémostase.

1. Mécanisme de la coagulation

Lorsqu'un vaisseau sanguin est lésé l'organisme met en place un processus appelé hémostase : il permet de stopper l'écoulement sanguin au niveau de la brèche tout en permettant une circulation sanguine normale dans le reste de l'organisme. Le phénomène de coagulation est donc localisé au site de l'écoulement sanguin. Il se décompose en deux étapes (38) :

- **L'hémostase primaire** avec une vasoconstriction des vaisseaux, associée à la formation d'un thrombus blanc
- **L'hémostase secondaire** avec la formation du thrombus rouge.

Ces deux processus sont simultanés et leurs mécanismes sont liés. Le phénomène de fibrinolyse permet enfin le retour à la normal via la destruction du caillot formé.

a) *Hémostase primaire*

L'hémostase primaire comprend deux étapes : la phase vasculaire et la phase plaquettaire. La **phase vasculaire** correspond à la vasoconstriction réflexe des vaisseaux, déclenchée par la sécrétion locale d'endothéline lors du contact entre le sang et la matrice extracellulaire sous-endothéliale. Ceci déclenche la phase plaquettaire (39).

L'endothélium joue un rôle primordial dans l'agrégation plaquettaire et la coagulation. Il possède des propriétés pro-plaquettaires via la sécrétion du facteur de Von Willebrand, des propriétés pro-coagulantes par synthèse de thromboplastine et de facteur tissulaire, et enfin des propriétés anti-fibrinolytiques par sécrétion d'un inhibiteur de l'activateur du plasminogène (39).

La **phase plaquettaire** correspond à l'adhésion des plaquettes. Lorsqu'une brèche vasculaire est présente, le collagène sous endothélial est mis à nu [étape 1]. Les plaquettes reconnaissent le collagène sous endothélial et s'y fixe via deux glycoprotéines : la GP6 et GP1b. La glycoprotéine GP1b fixe, en réalité, le facteur de Von Willebrand qui est lui-même fixé au collagène sous-endothélial. Elle est essentielle dans le processus d'activation des plaquettes (40). Le facteur de Von Willebrand est sécrété par les cellules endothéliales des vaisseaux. Le mécanisme d'agrégation des plaquettes est déclenché. Les plaquettes sécrètent du thromboxane A₂ (TxA₂) [étape 2] qui inhibe l'entrée du calcium dans le réticulum endoplasmique des plaquettes [étape 3], par conséquent la concentration cytoplasmique en calcium augmente et entraîne un changement de conformation du cytosquelette. Des phosphates, chargés négativement, localisés sur la face cytoplasmique de la membrane, apparaissent alors à la surface des plaquettes. Ils se fixeront, par la suite, aux facteurs de coagulation via du calcium (37).

L'activation des plaquettes permet également le changement de conformation des intégrines présentes à la surface des plaquettes. L'intégrine α IIb β 3 est la plus représentée, elle permet, notamment, la liaison avec le fibrinogène [étape 6] (41). Les plaquettes sécrètent également de l'ADP qui se lie à un récepteur plaquettaire : le récepteur P2Y₁₂ [étape 4]. Ceci provoque l'agrégation des plaquettes au niveau de la brèche vasculaire [étape 5].

La phase plaquettaire est résumée sur la Figure 12.

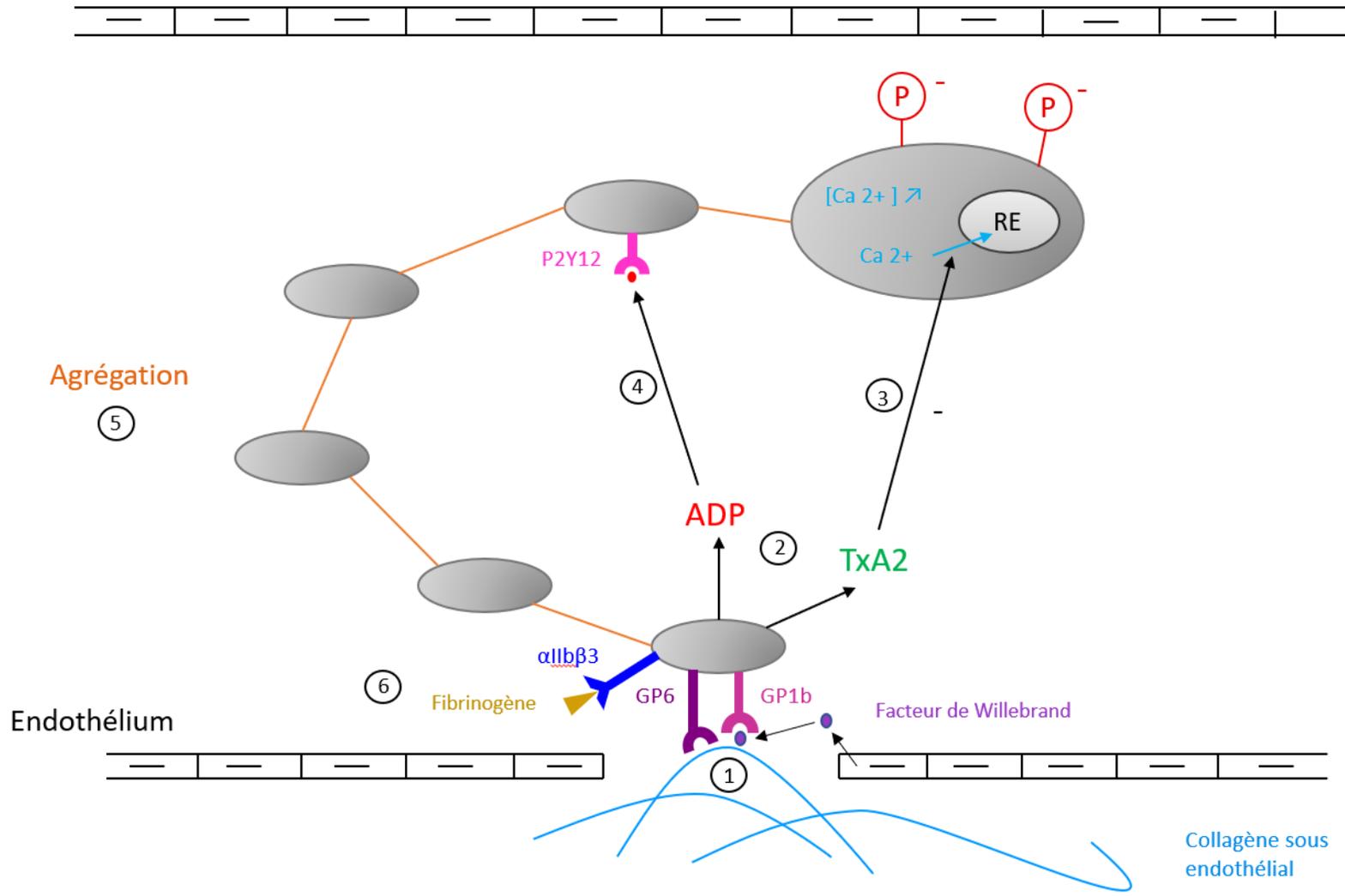


Figure 12: Phase plaquettaire de l'hémostase primaire d'après (41)

b) *Hémostase secondaire*

L'hémostase secondaire est un processus aboutissant à la formation de fibrinogène soluble converti en fibrinogène insoluble permettant la formation d'un caillot. Ceci résulte de l'activation successive des différents facteurs de coagulation, répertoriés dans le Tableau X, ce phénomène est appelé « cascade de coagulation ».

On distingue trois voies, qui peuvent être séparées *in vitro*, mais qui sont intimement liées *in vivo* (Figure 13) :

- La voie extrinsèque
- La voie intrinsèque
- La voie commune

Tableau X: Facteurs de coagulation et demi-vie chez le chien (42) (43) (44)

	Facteurs	Demi-vie (en h)
I	Fibrinogène	120
II /IIa	Prothrombine / Thrombine	41
III	Thromboplastine tissulaire ou facteur tissulaire	-
IV	Calcium	-
V	Proaccélérine	24
VII	Proconvertine	6
VIII	Facteur antihémophilique A	12
IX	Facteur Christmas ou antihémophilique B	13,9
X	Facteur Stuart	16,5
XI	PTA (Plasma Thromboplastin Antecedent)	60
XII	Facteur Hageman	60
XIII	Facteur stabilisant de la fibrine	150
FVW	Facteur de Von Willebrand	24

Les facteurs de coagulations sont synthétisés dans le foie, à l'exception du facteur VIIIc, du calcium et du facteur tissulaire. Certains facteurs sont vitamine-K dépendant, ils nécessitent la présence de vitamine K pour être activés. Il s'agit des facteurs VII, IX, X et II (37). Ils sont aussi appelés facteurs PPSB du fait de leurs noms respectifs (45):

- **Prothrombine** (facteur II)
- **Proconvertine** (facteur VII)
- Facteur **Stuart** (facteur X)
- Facteur antihémophilique **B** (facteur IX)

Les protéines C et S sont également vitamine-K dépendantes, ce sont des protéines anticoagulantes :

- La **protéine C** permet la dégradation des facteurs Va et VIIIa en facteur inactivé V et VIII (46).
- La **protéine S** est un cofacteur de la protéine C (47).

Les facteurs vitamine-K dépendants sont entourés d'un cercle gris sur les figures 13 et 14.

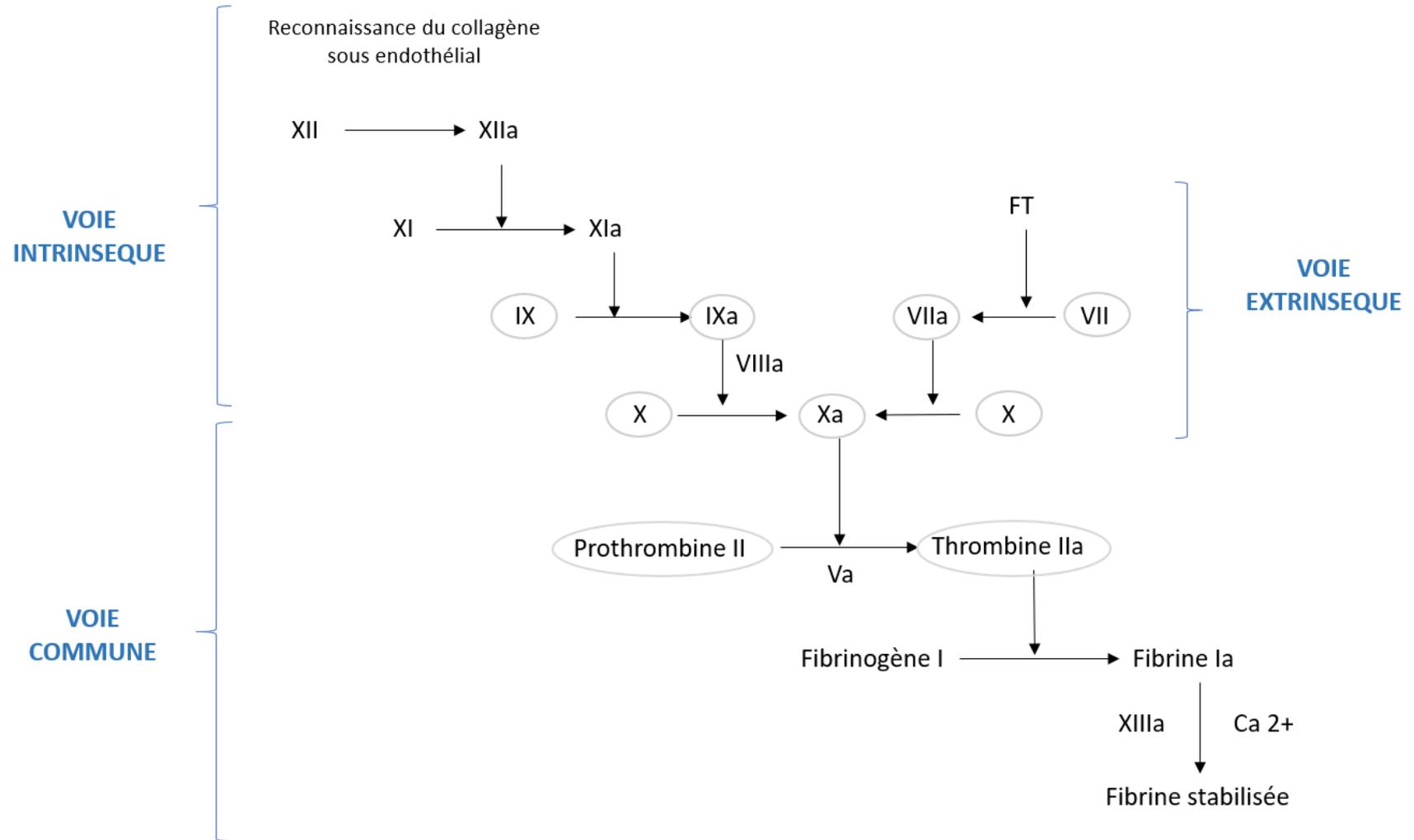


Figure 13: Cascade de la coagulation d'après (48)

- **La voie extrinsèque / voie exogène**

Cette voie est initiée par la sécrétion d'un facteur tissulaire (FT) par les tissus endommagés, les monocytes activés, les macrophages et les cellules endothéliales (48). Les cellules endothéliales peuvent être activées par des endotoxines et des cytokines inflammatoires. Le FT est une protéine membranaire, elle forme un complexe avec le facteur VII et permet l'activation de celui-ci en facteur activé VIIa. Ce facteur active, par la suite, le facteur X (49).

- **La voie intrinsèque / voie endogène**

Cette voie est initiée par la reconnaissance du collagène par les facteurs de coagulation. Les facteurs XII, XI, IX et VIII sont activés successivement et permettent le passage du facteur X à la forme active (50).

- **La voie commune**

Les voies extrinsèque et intrinsèque aboutissent à l'activation du facteur X, ceci correspond au début de la voie commune. Le facteur Xa et le facteur Va autorisent la transformation de la prothrombine (facteur II) en thrombine. La quantité initiale de thrombine produite est faible, elle devient plus importante par la suite grâce au rétrocontrôle positif. L'activation du facteur V est stimulée via la thrombine. Cette dernière permet, pour finir, la transformation du fibrinogène (facteur I) en fibrine insoluble.

La thrombine intervient également dans l'hémostase primaire puisqu'elle permet d'amplifier l'activation des plaquettes en les recrutant dans le torrent circulatoire. La formation de la fibrine se déroule simultanément à l'agrégation plaquettaire et renforce les ponts formés entre les plaquettes en se fixant au facteur de Von Willebrand (51).

Reconnaissance du collagène
sous endothélial

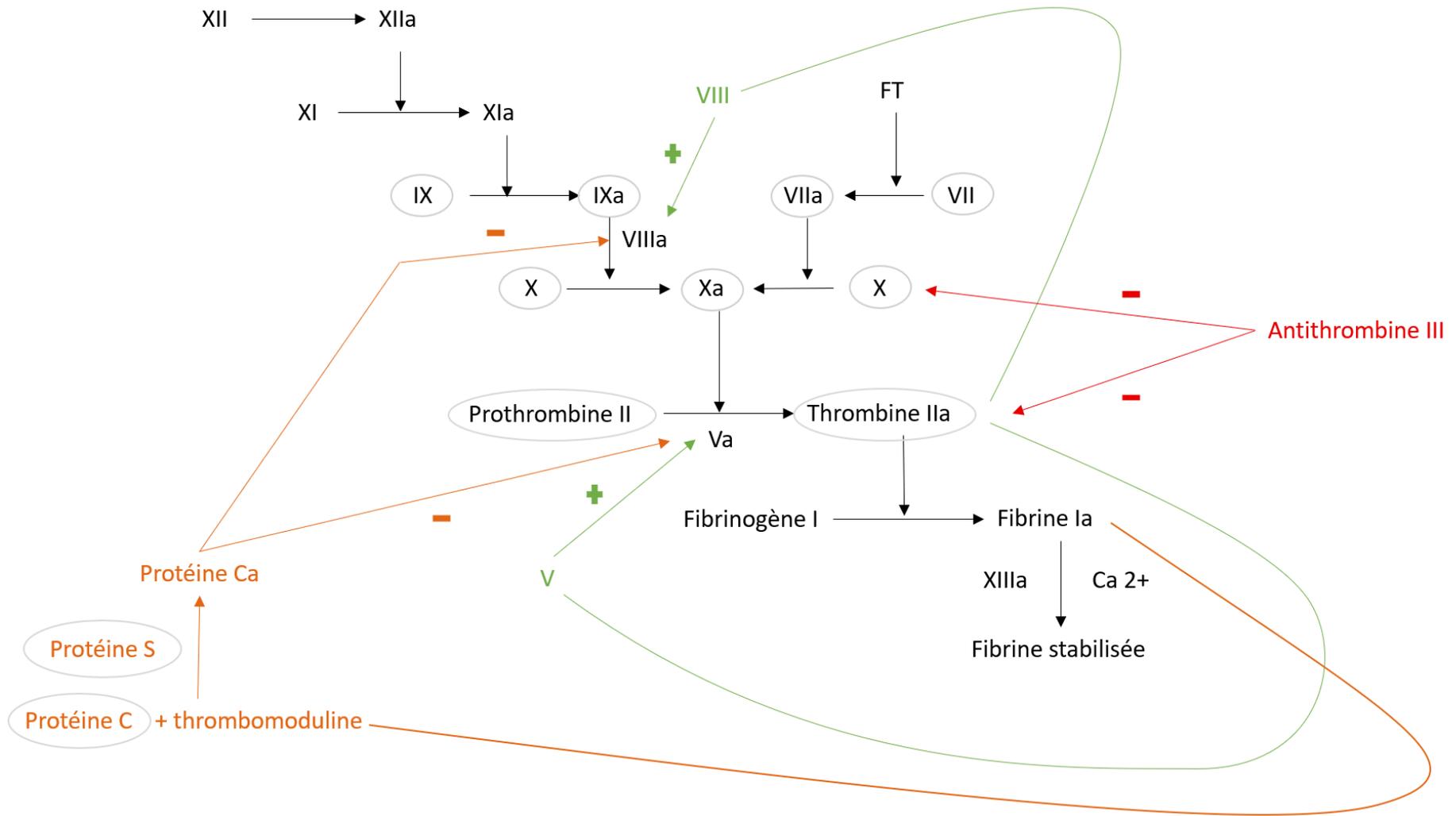


Figure 14: Mécanismes de régulation de la cascade de coagulation d'après (38) (52)

Cette cascade de coagulation est régulée de multiples façons, comme illustré sur la Figure 14 (37). Une fois formée, la thrombine favorise l'activation des facteurs VIII et V et exerce donc un rétrocontrôle positif sur la cascade. Ce rétrocontrôle se déroule à la surface des plaquettes activées, ceci est primordial pour que le phénomène de coagulation reste localisé au niveau de la brèche vasculaire.

Au contraire, certaines molécules inhibent la cascade, comme par exemple l'antithrombine III qui, associé à son cofacteur l'héparine, inhibe l'activation des facteurs X et VII et de la thrombine (53). De même, le facteur V est un cofacteur de l'activation de la protéine C qui, associée à la protéine S et la thrombomoduline, inhibent les facteurs VIII et V activés (54). Ceci est amplifié lors de la formation de la fibrine insoluble puisque celle-ci favorise le rétrocontrôle négatif exercé par les protéines préalablement citées.

c) Fibrinolyse

La fibrinolyse correspond à la dégradation enzymatique de la fibrine (Figure 15). Cette étape est essentielle puisqu'elle permet un retour à l'architecture normale des vaisseaux. La fibrinolyse est un phénomène physiologique permettant de prévenir un état d'hypercoagulabilité.

Le plasminogène est activé en plasmine par l'intermédiaire de deux molécules : le tPA (activateur tissulaire du plasminogène) et l'urokinase. Le tPA est produit par les cellules endothéliales après un traumatisme. L'urokinase provient de la pro-urokinase et est activée en urokinase grâce à une enzyme : la kallikréine.

La plasmine est responsable de la destruction de la fibrine aboutissant au PDF (produit de dégradation de la fibrine). Les produits de dégradation provenant de la fibrine sont les X-oligomères et les D-dimères (42). Les PDF sont ensuite évacués, via le sang, dans le foie puis éliminés par voie rénale. La plasmine est également responsable de la dégradation des facteurs de coagulation Va et VIIIa, du facteur de Von Willebrand et d'autres facteurs prothrombotiques. Enfin, la plasmine est rapidement inhibée et éliminée de la circulation via la fonction hépatique (37).

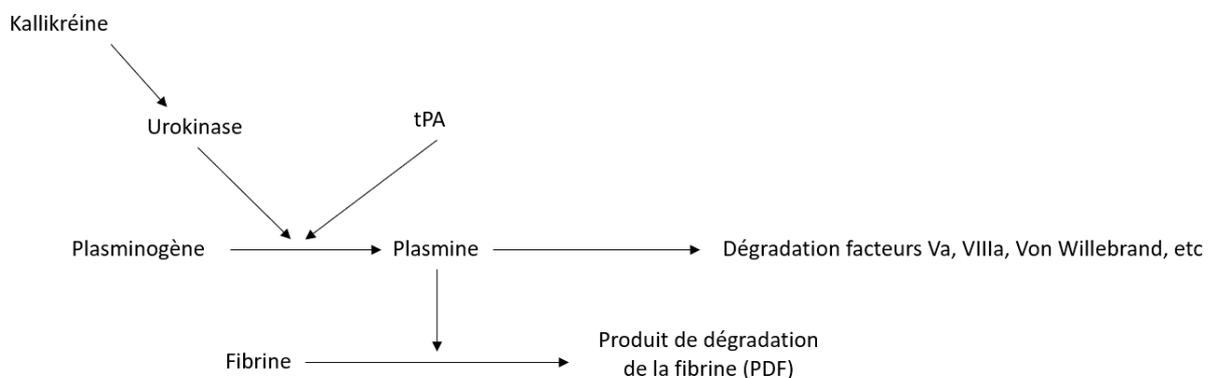


Figure 15 : La fibrinolyse d'après (37)

2. La vitamine K

a) Découverte de la vitamine K

La vitamine K a été découverte au début du XX^{ème} siècle à l'occasion de recherches sur l'origine de troubles entraînant des saignements chez des poulets recevant un régime sans graisse et sur la maladie hémorragique du bétail (nourri au trèfle ensilé).

En 1929, deux danois, Carl et Schônheyder, entreprennent des recherches sur le métabolisme du cholestérol. Ils étudient les carences alimentaires s'apparentant au scorbut mais qui, contrairement au scorbut, ne répondent pas à l'acide ascorbique.

Les deux scientifiques nourrissent des poulets avec une alimentation pauvre en graisse et constatent l'apparition d'hémorragies sous-cutanées et intramusculaires. Celles-ci ne répondent pas à l'administration d'acide ascorbique. Ils suspectent alors l'absence d'un facteur liposoluble dans l'alimentation qui ne correspond ni à la vitamine A, D ou E. Ils nomment ce facteur vitamine K pour « Koagulation Vitamin » (55).

Le premier cas de maladie hémorragique de bovin est décrit en 1924 au Canada. Il est dû à l'ingestion de foin ou d'ensilage contenant du dicoumarol. En effet certaines plantes, comme la flouve odorante (*Anthoxantum odorantum*) contiennent de la coumarine qui est convertit en dicoumarol par des moisissures du genre *Aspergillus* lors du stockage de l'ensilage. Le syndrome hémorragique s'explique par le fait que le dicoumarol est un antagoniste de la vitamine K (56).

b) Les différentes vitamines K

Plusieurs molécules sont regroupées sous le terme de « vitamine K », elles appartiennent à la famille des quinones. Les vitamines K sont des composés liposolubles, elles ont en commun un noyau 2-méthyl-1,4-naphtoquinone et diffèrent par un radical en position 3. On distingue trois vitamines K (Figure 16) (57) :

- La vitamine K1, appelée **phylloquinone**, est retrouvée à forte teneur dans les végétaux et plus particulièrement dans les légumes verts (chou, brocoli, épinard). La vitamine K1 est présente au niveau des membranes des chloroplastes des légumes précédemment cités. Le radical correspond à une chaîne aliphatique saturée (58).
- La vitamine K2, appelée **ménaquinone**, est d'origine animale (foie, lait, fromage, soja fermenté). Elle est produite par les bactéries intestinales. Le radical correspond à une chaîne aliphatique insaturée avec un nombre variable de groupements isoprényl.
- La vitamine K3, appelée **ménadione**, porte un simple radical hydrogène. C'est une molécule de synthèse.

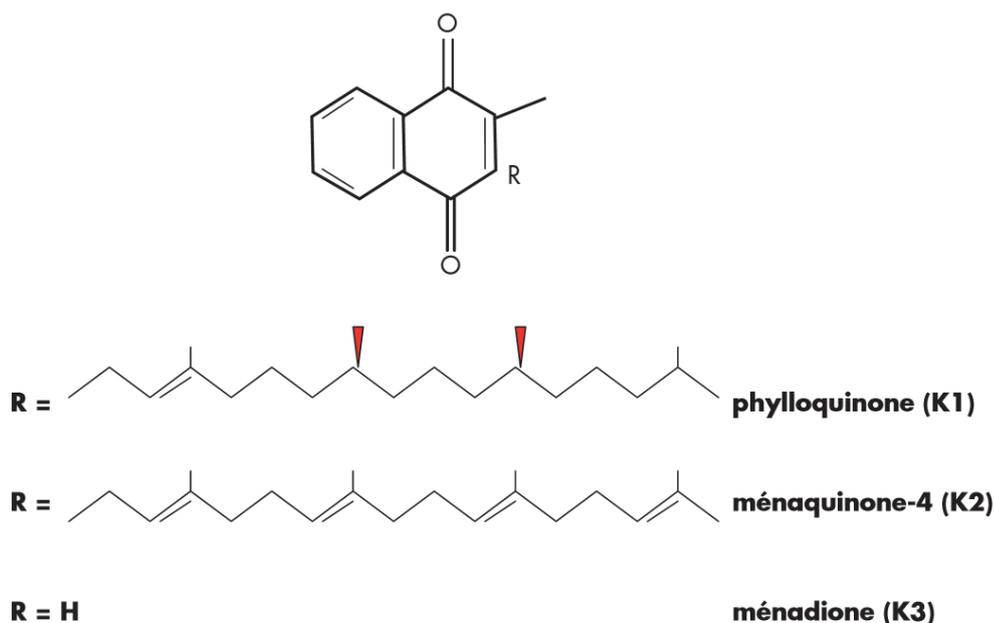


Figure 16 : Les différentes vitamines K d'après (57)

Bien que les sources de vitamine K1 soient multiples, l'apport alimentaire ne suffit pas à couvrir les besoins de l'organisme. Celui-ci recycle la vitamine K.

c) Pharmacocinétique de la vitamine K

(1) Absorption et diffusion

Les vitamines K sont liposolubles, leur absorption est favorisée par l'ingestion d'un repas riche en graisse. La présence de sels biliaires et de sucs pancréatiques est indispensable à l'incorporation des vitamines K dans les micelles. Tout processus interférant avec l'absorption des graisses peut réduire la disponibilité des vitamines K (59). Les molécules passent ensuite dans la circulation lymphatique (60).

La vitamine K1 est absorbée dans la partie proximale de l'intestin grêle par un phénomène actif et saturable, contrairement à la vitamine K2 qui est absorbée dans le gros intestin et le côlon via un transport passif (61). La vitamine K1 serait absorbée à 50% (59).

Une fois dans le sang, la vitamine K1 est liée à 90% à des lipoprotéines. La molécule est détectable dans le sang 1 à 2 h après l'administration (62).

(2) Métabolisme et élimination

La vitamine K1 est très rapidement concentrée et retenue dans le foie. Elle subit une glucuroconjugaison. L'élimination se fait via les urines et les fèces.

La demi vie de la vitamine K est d'environ 6 heures.(62) (59)

d) Cycle de la vitamine K

La vitamine K est un co-substrat pour la γ -carboxylation des protéines vitamine K dépendantes (facteur II, facteur VII, facteur IX, facteur XI, protéine C et protéine S) (63). Ces protéines interviennent dans la coagulation mais également dans la régulation de la calcémie.

La γ -carboxylation est une étape de maturation post-transductionnelle indispensable à leur activité. Les protéines vitamines K dépendantes contiennent 4 à 6 résidus carboxyglutamate (Glu) (64) qui sont convertis, par γ -carboxylation, en résidus acide glutamique (Gla), au niveau du réticulum endoplasmique, grâce à une enzyme : la γ -glutamyl-carboxylase.

La vitamine K1 est préférentiellement utilisée pour la γ -carboxylation des protéines de la coagulation dans l'hépatocyte alors que la vitamine K2 intervient plutôt dans le métabolisme osseux.

La présence du résidu Gla sur les protéines vitamine K dépendantes permet la fixation des ions calcium qui vont par la suite se fixer aux phospholipides membranaires des plaquettes, chargés négativement.

La vitamine K apportée par l'alimentation est sous la forme quinone (K), elle n'est pas directement utilisable par l'organisme, il est nécessaire qu'elle soit réduite en hydroquinone (KH₂) afin d'être active. Ceci est permis par le cycle de la vitamine K (Figure 17).

L'hydroquinone intervient, par la suite, dans la réaction de γ -carboxylation et est transformée en époxyde (KO). Cette forme de la vitamine K est ensuite recyclée en quinone par la sous unité VKORC1. La sous unité VKORC1 appartient à un complexe enzymatique : le complexe vitamine K époxyde réductase (VKOR). Cette dernière réaction permet le recyclage de la vitamine K et donc la γ -carboxylation des facteurs vitamines K dépendants.

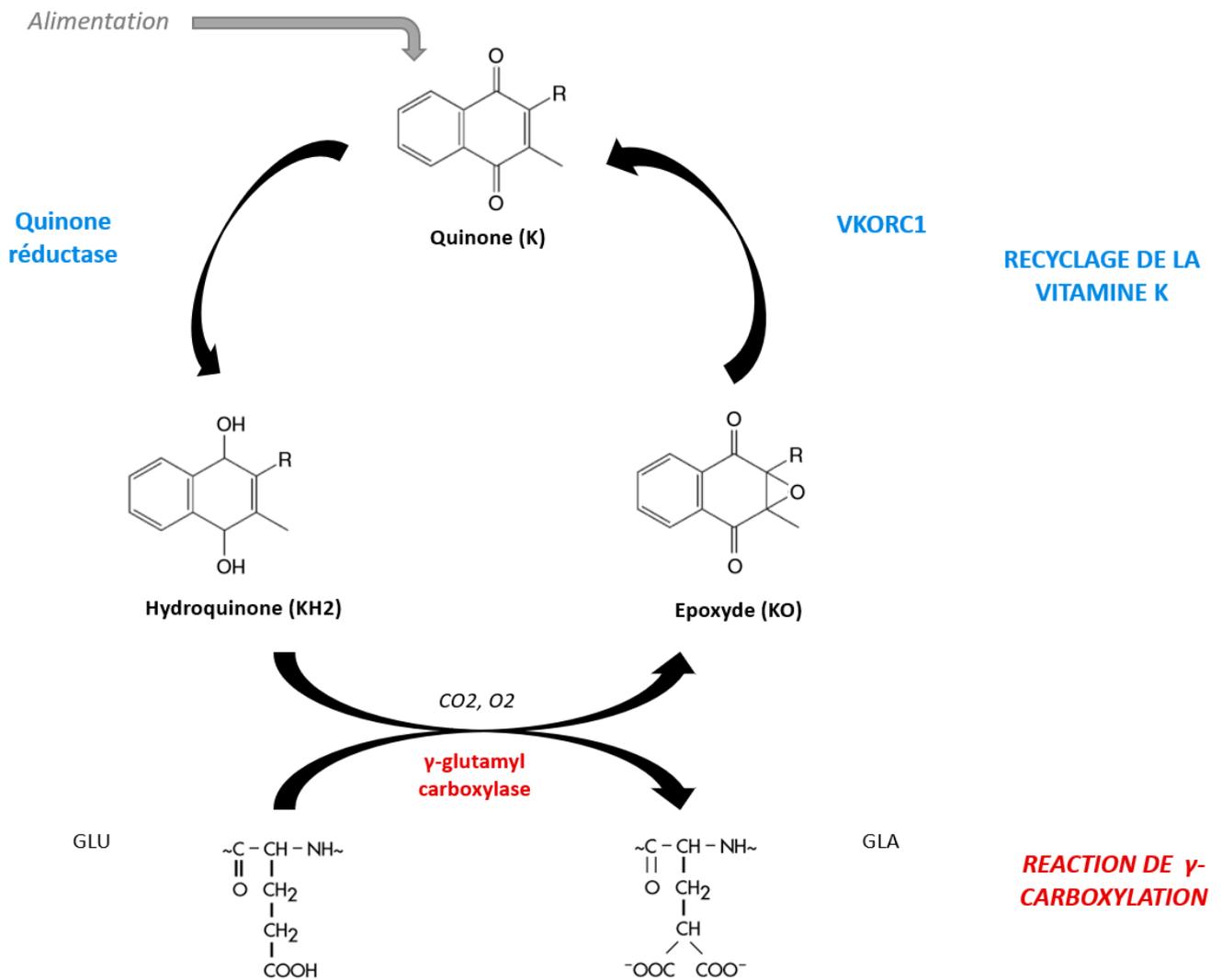


Figure 17 : Cycle de la vitamine K inspiré d'après (57), (48)

3. Action des anticoagulants sur le cycle de la vitamine K

Les AVK interviennent au niveau du cycle de la vitamine K dont ils inhibent deux étapes (Figure 18) :

- La réduction de la forme époxyde en quinone
- La réduction de la forme quinone en hydroquinone

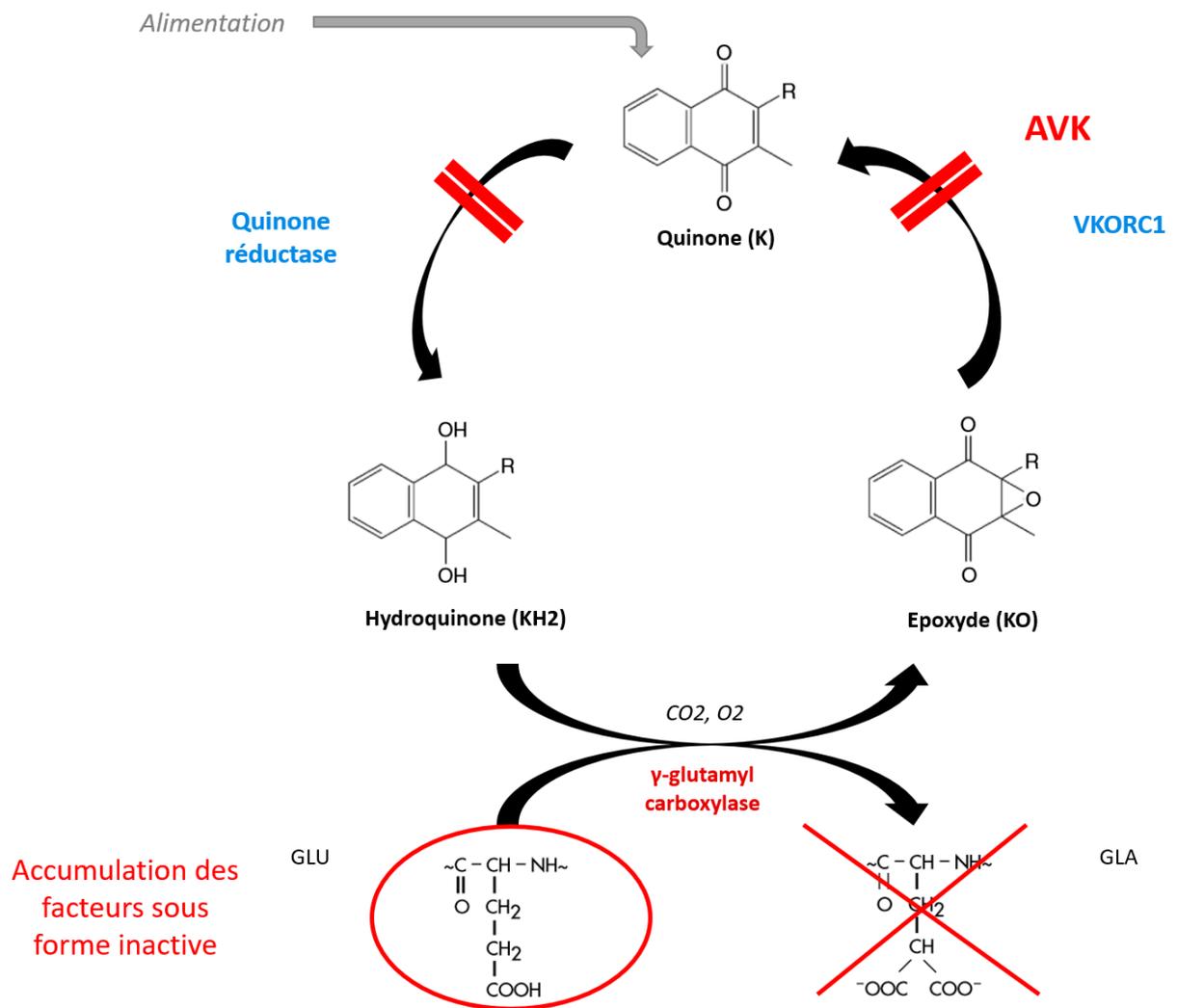


Figure 18 : Action des AVK sur le cycle de la vitamine K

Le recyclage de la vitamine K s'arrête et l'organisme épuise alors le stock de forme hydroquinone nécessaire à la réaction de γ -carboxylation. Les facteurs de coagulation vitamine-k dépendants restent sous la forme inactivée, ce qui empêche la fixation du calcium. Les AVK sont donc responsables de l'augmentation du temps de coagulation et retardent la formation de la fibrine (61).

Les facteurs de coagulation non fonctionnels s'accablent dans les microsomes hépatiques. En l'absence de vitamine K, ils s'accablent et passent dans la circulation sanguine. Les facteurs sont alors nommés PIVKA (Proteins Induced by Vitamin K Absence or Antagonists), ils sont inactifs (65). Les PIVKA sont absents dans la circulation systémique d'un patient sain.

4. Phénomène de résistance aux AVK

Le phénomène de résistance aux raticides anticoagulant a été découvert en Ecosse en 1960 chez *Rattus norvegicus* (24), puis au Danemark en 1962 (66) et dans le reste l'Europe. La résistance aux anticoagulants correspond à une perte majeure d'efficacité de ces derniers, lors

d'une utilisation correcte dans des conditions normales. Cette perte d'efficacité est due à la présence de rongeurs possédant une sensibilité aux anticoagulants notablement réduite et transmise génétiquement (67).

La résistance des rongeurs repose sur deux mécanismes (68). Tout d'abord, la résistance de cible qui est le résultat d'une mutation sur le gène *vkorc1*. La mutation est de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Un nucléotide est muté et est remplacé par un autre nucléotide, la transcription du gène *vkorc1* puis la traduction entraînent un changement d'acide aminé au sein de la protéine VKORC1. La structure et la fonction de la protéine VKORC1 sont altérées et sont responsables de la résistance des rats aux AVK.

La résistance métabolique est le second mécanisme. Elle correspond à une surexpression du cytochrome P-450 permettant de diminuer l'effet des AVK.

La résistance des rongeurs à ces molécules est, bien évidemment, problématique dans le cadre de la lutte contre ces nuisibles mais elle intervient également dans les intoxications des espèces non-cibles. En effet, les rongeurs résistants accumulent dans leur organisme une quantité d'AVK plus importante qu'un rongeur sensible, et cela sans présenter de signes cliniques. Si des rongeurs résistants sont ingérés par des prédateurs, ceux-ci consommeront une plus grande quantité de raticide que s'ils avaient ingéré un rongeur sensible. Les conséquences peuvent être dramatiques. Cependant, on peut également penser que les rongeurs les plus facilement chassés, correspondent aux rongeurs intoxiqués, rendus alors plus vulnérables par l'ingestion de raticides.

D. Symptomatologie et traitement des intoxications aux AVK

1. Symptomatologie

Le tableau clinique des intoxications aux AVK résulte du phénomène hémorragique. On distingue des symptômes (69) (70) (71) très peu spécifiques, secondaires à un saignement, pour lesquels l'hémorragie n'est généralement pas visible lors de l'examen clinique :

- Léthargie
- Toux (hémorragie pulmonaire, trachéale, médiastinale ou laryngée)
- Dyspnée (hémothorax, hémorragie du parenchyme pulmonaire, hémomédiastin)
- Choc hypovolémique
- Signes neurologiques (hémorragie dans le système nerveux central)
- Anorexie
- Obstruction des voies respiratoires supérieures (72)
- Distension abdominale

On peut distinguer également des symptômes pour lesquels le phénomène hémorragique est visualisable :

- Hématome sous cutané ou intra musculaire, pétéchies
- Hémoptysie
- Hématurie
- Hématémèse

- Hématochézie, méléna
- Epistaxis
- Saignement vaginal ou préputial
- Hémorragie sclérale ou sous-conjonctivale, hyphéma

Lors de l'examen clinique, le praticien peut également noter une tachycardie, une tachypnée ou encore des bruits cardiaques et respiratoires étouffés (28) (73) (74). Un saignement persistant, localisé au site de ponction, peut survenir suite à un prélèvement sanguin (75).

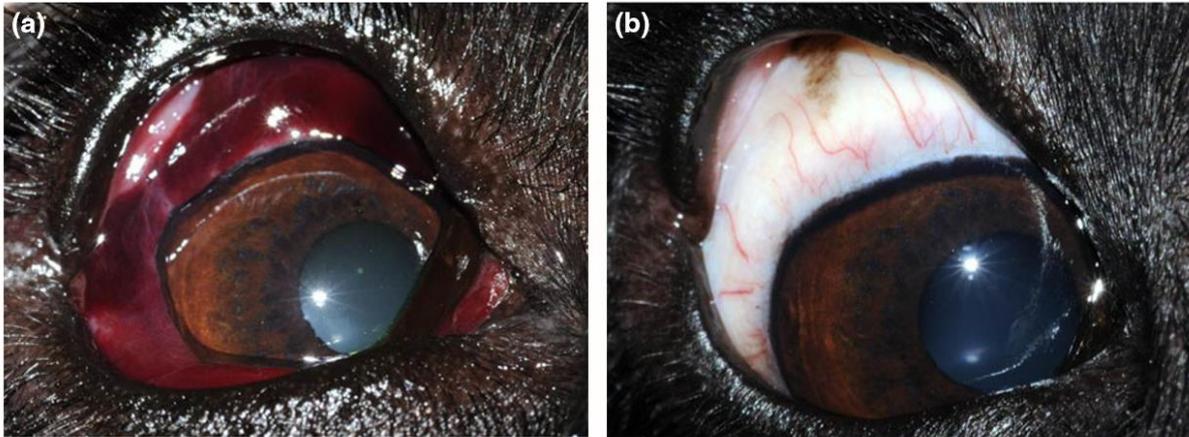


Figure 19 : Hémorragie sous conjonctivale et exophthalmie chez une chienne Labrador de 4 ans avant (a) et après traitement à la vitamine K (b) d'après (76)



Figure 20 : Epistaxis unilatérale compatible avec une intoxication aux anti-vitamine K (Crédit photo : Frégis)

En 2003, WADDELL et POPPENGA réalisent une étude rétrospective sur 121 chiens intoxiqués aux raticides anticoagulants, parmi eux 121 présentent des signes cliniques. Le Tableau XI récapitule les symptômes les plus fréquemment observés.

Tableau XI: Fréquence des signes cliniques observés suite à une intoxication aux anticoagulants (77)

Signes cliniques	Chiens concernés
Léthargie / perte conscience	60,3 % (n=73)
Anorexie / perte d'appétit	40,5 % (n=49)
Vomissements	25,6 % (n=31)
Dyspnée	20,7 % (n=25)
Toux	18,2 % (n=22)

L'absence de signes cliniques résultant d'une hémorragie externe rend le diagnostic difficile puisque le clinicien se trouve face à des symptômes très peu spécifiques, voire des symptômes évoquant d'autres pathologies. En 2017, l'université de l'Illinois rapporte cinq cas d'obstruction des voies aériennes supérieures secondaires à une intoxication aux anticoagulants pour lesquels cette hypothèse n'était pas prioritaire voire non envisagée par le clinicien (78). Le premier cas est un Bichon Maltais de 1 an et 10 mois présenté pour détresse respiratoire aiguë. On note également, à l'examen clinique, une masse dans la partie crânioventrale de la région cervicale dont la palpation aggrave la détresse respiratoire. La prise en charge d'urgence ne permet pas de maintenir l'animal en vie. Une autopsie est réalisée et montre une hémorragie et un œdème en région pharyngée et laryngée. Des troubles de la coagulation sont suspectés. Les propriétaires informent le clinicien de la présence de raticides anticoagulants sur leur propriété. Un bilan d'hémostase est effectué sur les deux autres chiens des propriétaires, les temps de coagulation sont augmentés et les chiens sont placés sous vitamine K1.

Parmi les cinq chiens on retrouve deux chiens de petit gabarit (Shih tzu et Spitz nain) présentés respectivement pour toux, respiration stertoreuse, faiblesse du membre pelvien gauche et pour détresse respiratoire aiguë et changement de voix. Ces deux chiens présentent un rétrécissement du diamètre trachéal à l'examen radiographique compatible en priorité avec un collapsus trachéal. Pourtant, dans ces deux cas, l'obstruction des voies aériennes supérieures est due à un phénomène hémorragique.

Ce rapport de cas illustre donc bien la non spécificité des signes cliniques engendrés par une intoxication aux raticides anticoagulants.

Le praticien ne doit pas négliger les signes fonctionnels qui peuvent traduire des hémorragies internes comme des troubles de la vision conséquences d'un hyphéma ou d'une hémorragie du fond de l'œil, des troubles nerveux faisant suite à une hémorragie cérébro-méningée, une boiterie consécutive à un hémarthrose, une dyspnée causée par une hémorragie pleurale (79), ou encore une obstruction urétérale causée par un caillot dans la vessie (80).

Il existe un temps de latence, de l'ordre de quelques jours, entre l'ingestion du toxique et l'apparition des symptômes. Ceci est expliqué par le mode d'action des AVK : l'apparition des symptômes est due à l'épuisement du facteur II dont la demi-vie est de 41 heures. Les effets anticoagulants surviennent après une période correspond à deux fois la demi-vie du facteur II soit environ 3 jours et demi (81). Ce temps de latence représente un avantage puisqu'il offre la possibilité au praticien d'intervenir avant l'apparition des signes cliniques dans les meilleures conditions possibles. Néanmoins, ce temps de latence peut induire les propriétaires en erreur :

ceux-ci ne voyant pas de signes cliniques après l'ingestion, considèrent fréquemment que tout risque est écarté et négligent la surveillance de leur animal voire oublient de signaler la présence de raticide dans l'environnement lors de la consultation (82).

La symptomatologie des intoxications aux AVK est vaste et peu spécifique. Plusieurs outils sont à notre disposition afin d'établir un diagnostic.

2. Diagnostic

Devant la suspicion d'un trouble de la coagulation il convient de réaliser un bilan d'hémostase.

On mesure tout d'abord le temps de Quick. Il traduit une anomalie de la voie extrinsèque de l'hémostase secondaire. Le temps de Quick (TQ) correspond à la formation de fibrine dans un tube citraté après addition du facteur III et de calcium (83). C'est un marqueur précoce des intoxications aux AVK. Le temps de Quick est augmenté dans les 36 heures suivant l'ingestion du toxique (81). En effet le facteur VII possède la demi-vie plasmatique la plus courte, il fait donc défaut en premier (82). Les valeurs usuelles du TQ sont de 7 à 9 secondes (à valider suivant les appareils). Au-delà de 100 secondes, il n'y a aucun doute sur la présence d'une intoxication aux raticides anticoagulants (15). On considère que le TQ est augmenté lorsqu'il est supérieur à 25% de la valeur du témoin (82) (75).

Par la suite, le temps de céphaline activée (TCA) est également augmenté puisque les autres facteurs de coagulation vitamine-K dépendants sont consommés. Il traduit un désordre de la voie intrinsèque de l'hémostase secondaire. Le TCA correspond à la formation de la fibrine dans un tube citraté après ajout du facteur d'activation de la voie intrinsèque, de phospholipides et de calcium (83). Les valeurs usuelles du TCA sont de 15 à 30 secondes (15). L'augmentation majeure et simultanée des deux paramètres signe avec certitude une exposition aux AVK.

Les différentes voies explorées par le TQ, le TCA et le TT sont représentées sur la Figure 21.

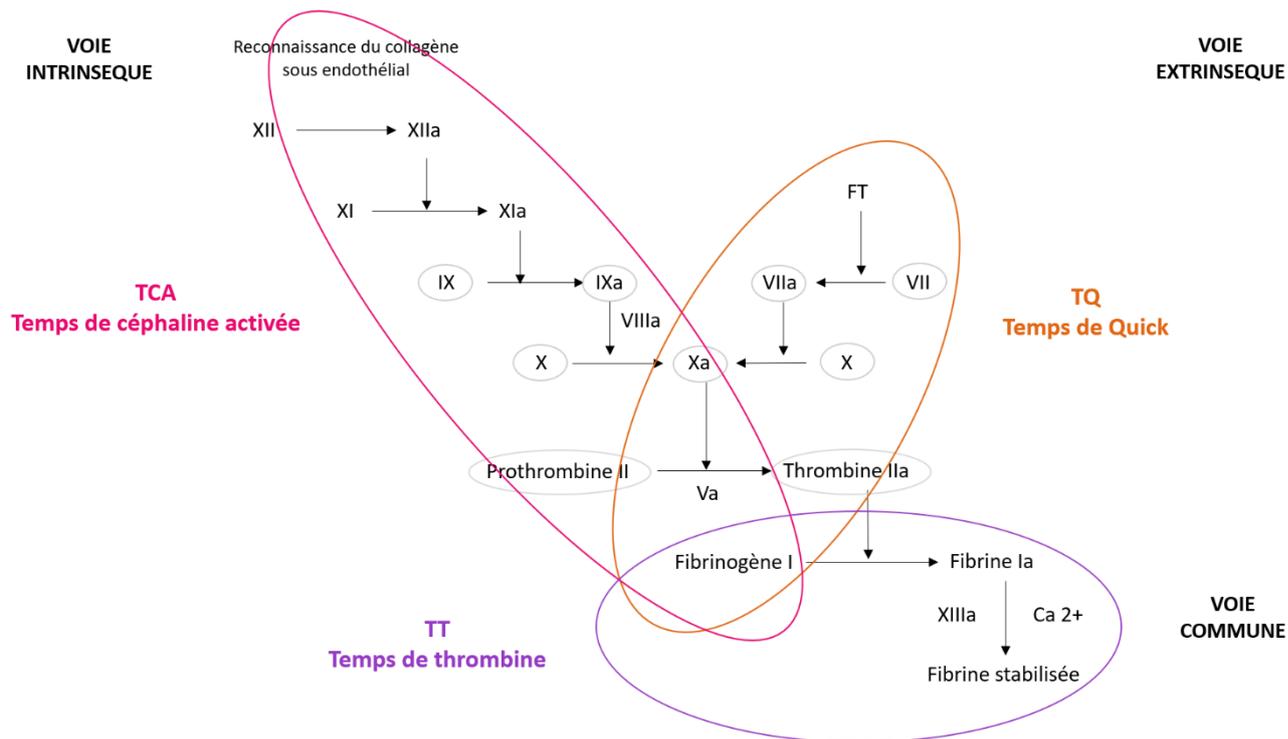


Figure 21: Voie de l'hémostase secondaire explorées par le TQ, le TCA et le TT (83)

Dans le cadre d'une intoxication aux anti-vitamines K on peut donc retrouver soit une augmentation du TQ et un TCA normal ou un TQ et un TCA augmentés. Le TT est rarement augmenté, sauf en fin d'évolution lors de CIVD ou d'hémorragies massives avec épuisement des capacités de coagulation. La Figure 22 récapitule le diagnostic différentiel des troubles de l'hémostase secondaire en fonction des résultats du bilan d'hémostase.

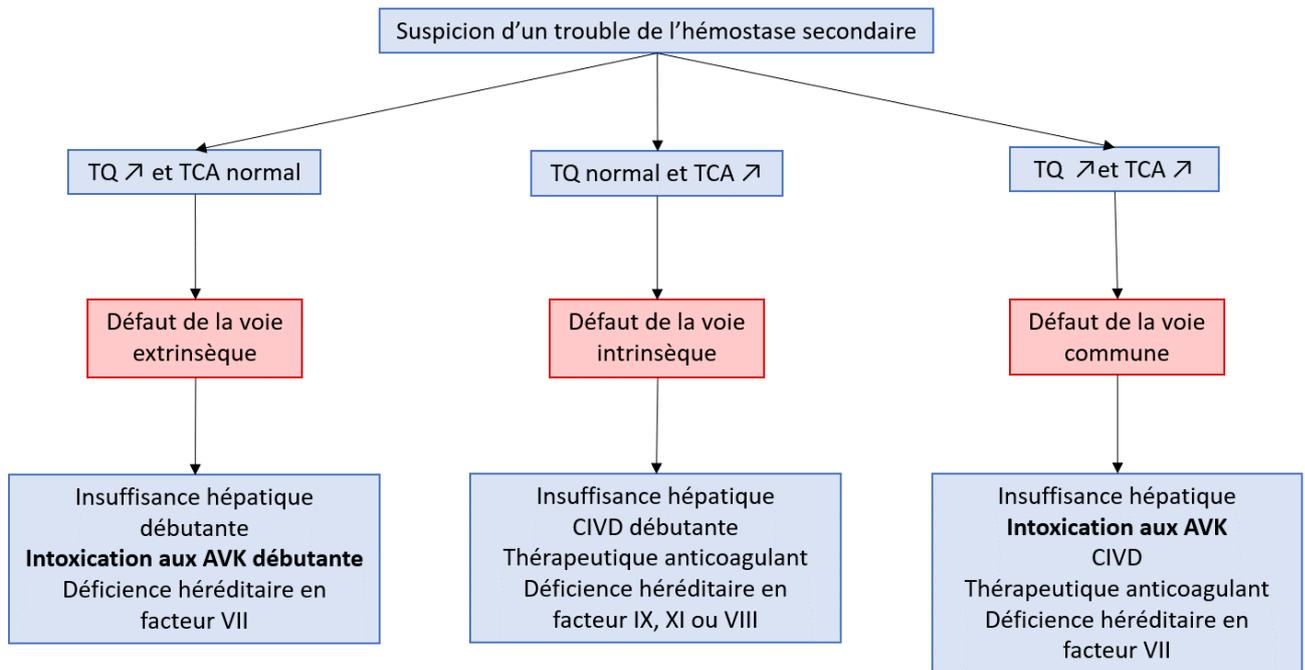


Figure 22: Diagnostic différentiel des troubles de l'hémostase secondaire (84)

Dans le cas où le chien est présenté en consultation immédiatement après l'ingestion du raticide, il est inutile de réaliser un bilan de coagulation à ce moment-là. Il faudra le faire 48h après l'ingestion (75).

Lorsque le clinicien ne dispose pas d'automate permettant la mesure des paramètres de la coagulation, il est possible de réaliser un temps de coagulation sur tube sec. Ce test est peu spécifique mais permet d'orienter le diagnostic. Dans le cadre d'une intoxication, le temps de coagulation sur tube sec est supérieur à 20 minutes (15).

D'autres examens complémentaires peuvent être réalisés en fonction des signes cliniques présentés par le patient. Une dyspnée peut amener à effectuer un cliché radiographique par exemple (Figure 23). Le Tableau XII regroupe les examens complémentaires pouvant être entrepris et leur résultat dans le cadre d'une intoxication aux anti-vitamines K, suivant la localisation de l'hémorragie.

Tableau XII: Examens complémentaires pouvant être réalisé lors d'intoxications aux AVK (52) (71) (28) (36)

Examen complémentaire	Anomalies observées
Radiographie du thorax	Epanchement pleural Augmentation d'opacité des tissus mous médiastinaux (hémomédiastin) Opacification alvéolaire à interstitielle des lobes pulmonaires (Hémorragie pulmonaire) Diminution du diamètre trachéal (saignement intra-trachéal ou extra-trachéal)
Radiographie abdominale	Distension abdominale Perte de contraste (Hémopéritoine)
Echographie T-FAST / A-FAST	Signes d'épanchements (Hémoabdomen, hémopéricarde, etc)
Numération formule	Anémie normochrome, normocytaire et régénérative Diminution hématocrite Thrombocytopénie Leucocytose neutrophilique
Biochimie	Hypoprotéïnémie Hypoalbuminémie Hyperglycémie Bilirubinémie
Analyse d'urine	Hématurie Protéinurie

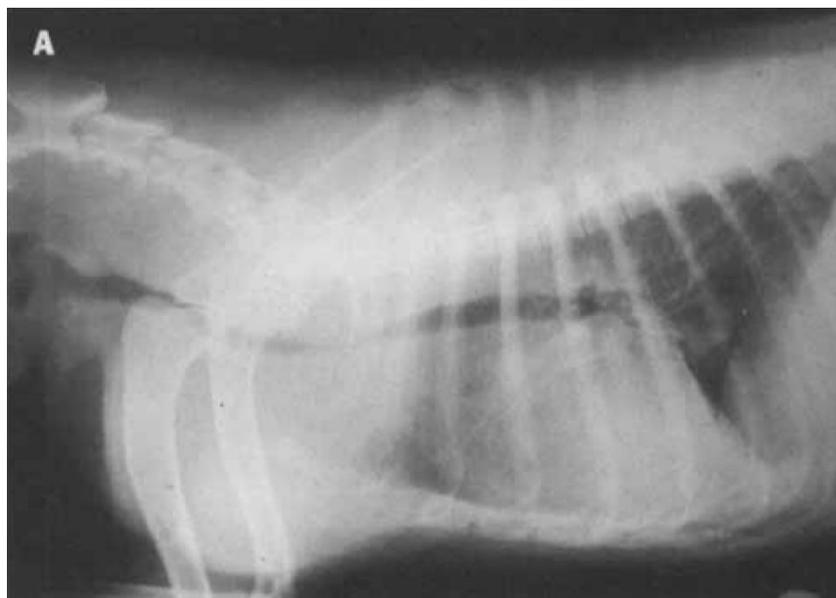


Figure 23: Vue latérale du thorax d'un chien intoxiqué aux AVK, on note un rétrécissement trachéal en région cervicale et dans la partie crâniale du médiastin, et une opacification interstitielle (72)

Il existe d'autres analyses, moins fréquemment utilisées en routine telles que le dosage des anticoagulants dans le plasma ou le dosage des PIVKA, c'est-à-dire le dosage des protéines vitamine K dépendantes non gamma-carboxylées.

Lors d'intoxication, le diagnostic de certitude est réalisé via l'identification de l'anti-vitamine K. Cela permet au propriétaire d'identifier la source de l'intoxication de son animal et, ainsi, de diminuer le risque de récurrence. Ce test peut également permettre de démontrer à un propriétaire que le chien a bien accès à des molécules anticoagulantes. Cependant, les anti-vitamines K sont rapidement éliminées du sang, il faut donc réaliser le prélèvement au bon moment pour détecter la molécule, c'est-à-dire lorsque les AVK sont toujours présents dans le plasma (36). Le prélèvement du foie permet également l'identification de la molécule, après examen post-mortem (74). L'absence de détection de ces molécules ne doit toutefois pas conduire le praticien à écarter sa suspicion en raison, notamment, des biotransformations intenses de ces molécules dans l'organisme (82).

Dans le cas d'une intoxication aux anti-vitamine K, les concentrations en PIVKA sont augmentées en 12 à 24h (85). Le test, correspondant à la mesure de la concentration en PIVKA, est sensible aux absences de vitamine K dans l'organisme (86). En médecine humaine le taux de PIVKA augmente fortement dans les trois jours suivant le début du traitement à la warfarine lors de traitement de maladies thromboemboliques (87). La concentration en PIVKA est également augmentée lors de déficience en facteur VII, X et II héréditaire ou acquise autre qu'une intoxication aux raticides, lors de mastocytome, de nécrose hépatique (88) ou lors de syndrome de malabsorption ou maldigestion (73).

Les études ne sont pas unanimes quant à la supériorité du dosage des PIVKA par rapport au TQ, certains affirment que le dosage serait plus sensible (88) et d'autres montrent que la réalisation du dosage des PIVKA en association avec le TQ n'apporterait aucune information diagnostique supplémentaire (89).

Ces deux tests sont peu utilisés en situation d'urgence mais peuvent permettre de confirmer un diagnostic incertain.

L'administration de vitamine K1 permet une normalisation du TQ en 20 à 30 minutes après injection, ceci peut également constituer un diagnostic thérapeutique rapide (15).

Enfin, un examen post-mortem peut orienter notre diagnostic. Des signes d'hémorragies peuvent être visualisables et une analyse toxicologique du foie peut permettre de connaître le toxique incriminé (36). A l'autopsie, on visualise le plus fréquemment chez le chien des hémopéritoines, des hémothorax, des hémorragies pulmonaires, des effusions pleurales et/ ou péricardiques ou encore des hémorragies intratrachéales (21).

3. Traitement

Le traitement étiologique consiste en la supplémentation en vitamine K1. La vitamine K1 est la molécule de choix, la vitamine K3 est moins efficace et son administration à forte dose peut entraîner des effets secondaires (61). Le traitement est réalisé dès que le TQ est

augmenté même si le chien ne présente pas de signes cliniques. Le protocole classiquement utilisé comprend deux injections de vitamine K1 à 5 mg/kg IV à 12 heures d'intervalle puis un relais per os à 5 mg/kg une fois par jour pour un poids inférieur à 35kg et 2 à 5 mg/kg par jour si le poids est supérieur à 35 kg. La vitamine K1 est mieux assimilée lorsqu'elle est ingérée avec un repas riche en graisse (59). Si le relais per os n'est pas possible, on poursuit le traitement par des injections sous cutanées.

La durée du traitement à la vitamine K1 dépend du toxique impliqué. En effet plus les AVK sont récents plus leur rémanence hépatique, et donc la durée de traitement, est longue. Elle peut varier de 3 à 6 semaines. En pratique courante, on réalise un traitement de 2 semaines pour le coumafène et le coumatétralyl, 3 semaines pour la bromadiolone et la chlorophacinone, 4 semaines pour le difénacoum et 5 semaines pour le brodifacoum, la diféthialone et le flocoumafén (82). Aucune publication n'a confirmé ces durées de traitement.

Lorsqu'on ne connaît pas la molécule impliquée, on effectue un traitement de 3 semaines puis on mesure le TQ 48 h après l'arrêt du traitement. Si le TQ est augmenté il faut prolonger de traitement de 3 semaines (82).

Des réactions anaphylactiques sont rapportées lors d'injections intraveineuses trop rapides, l'animal peut alors présenter un arrêt cardiaque ou respiratoire. Les injections intramusculaires sont à proscrire, en effet des hématomes peuvent se former au point d'injection (6).

Si le propriétaire **suspecte l'ingestion du toxique** ou **s'il en a été témoin**, on réalise le traitement classique des intoxications. Si l'ingestion date de moins de 6 heures il est recommandé de faire vomir le chien en administrant de l'apomorphine (EMEDOG®) à la dose de 0,1 mg/kg SC en une injection unique (91). De plus, il peut être intéressant de prescrire un anti-absorbant oral pour compléter le traitement tel que le charbon végétal activé (CARBODOTE®) à raison de 2 à 5 mL/kg à renouveler toutes les 4 à 6 pendant 24 heures (92). PACHTINGER et al. (81) réalisent une étude sur 151 chiens, présentés dans les 6 heures suivant l'ingestion d'un raticide, auxquels on administre une molécule émétisante et/ou du charbon végétal activé. Le TQ est mesurée dans les 2 à 6 jours suivant la consultation. Il s'avère que seulement 7,3 % des chiens ont un TQ significativement augmenté, c'est-à-dire qu'ils ont absorbé une quantité suffisante d'AVK pour engendrer une coagulopathie nécessitant un traitement à la vitamine K1. Ce résultat est intéressant puisqu'il pourrait permettre de limiter le nombre de traitement à la vitamine K1 mis en place chez des animaux ayant ingéré des raticides et donc de diminuer le coût et le stress imposés au propriétaire par l'administration d'un traitement de longue durée.

Si l'animal **est présenté une fois que les symptômes dus à l'intoxication sont présents**, il convient de réaliser un traitement étiologique mais également un traitement de soutien. Tout d'abord on peut mettre en place une fluidothérapie, afin de maintenir une pression artérielle entre 60 et 90 mmHg ce qui permet une perfusion tissulaire correcte sans favoriser les saignements. La supplémentation en oxygène est utilisée lorsque l'animal présente des difficultés respiratoires ou lors d'anémie. Enfin certains chiens nécessitent une transfusion. En effet, les facteurs de coagulation ne sont régénérés qu'à partir de 12 heures voire plus dans certains cas (93). L'apport de sang total ou de plasma permet l'apport de facteurs de coagulation. La durée de vie des facteurs de coagulation apportés est d'environ 6 heures. Le

sang total est à privilégier puisqu'il apporte également des globules rouges. On transfuse 10 à 20 mL/kg de sang du même groupe sanguin en 4h maximum jusqu'à normalisation des temps de coagulation (94). Le plasma est administré à raison de 10 à 20 mL/kg (73).

Certains patients peuvent nécessiter la réalisation de thoracocentèse ou péricardiocentèse. Il faut, cependant, être vigilant puisque réaliser de tels actes alors que la fonction de coagulation présente des anomalies peut être délétère pour le patient (85).

Enfin, l'administration de certains médicaments tels que le chloramphénicol, les sulfonamides, le triméthoprim, le métronidazole, la néomycine, les AINS (Anti inflammatoires Non Stéroïdiens), et la cimétidine est déconseillée. Le taux de liaisons de ces molécules est supérieur à celui des anticoagulants et augmentent le passage des AVK de leur forme liée inactive à leur forme libre active (82).

4. Pronostic

Le pronostic de ces intoxications est bon lorsque l'ingestion a été constatée et que le chien est amené immédiatement, ou si le chien est présenté en consultation dès l'apparition des premiers symptômes. Le pronostic dépend de la localisation de l'hémorragie, il sera réservé lorsque l'hémorragie est localisée dans le système nerveux central par exemple (32).

II. Etude expérimentale des intoxications aux raticides chez les chiens

A. Cadre et objectifs de l'étude

1. Cadre de l'étude

Les intoxications aux rodenticides anticoagulants sont un phénomène fréquent. Entre 2015 et 2017, le Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires (CNITV) a répertorié 46 444 appels dont 3968 concernaient les intoxications aux anticoagulants, soit 8,5 % des appels sur trois années consécutives. Ces appels correspondent à de réelles intoxications ou simplement à des demandes d'informations concernant les intoxications aux AVK. De multiples espèces sont concernées, mais d'après les chiffres du CNITV, les chiens restent l'espèce la plus impliquée dans ces intoxications (Tableau XIII).

Tableau XIII: Répartition des espèces concernées par les appels au CNITV, entre 2015 et 2017, dans le cadre des intoxications aux anticoagulants

Espèce	Pourcentage d'appels concernant l'espèce
Chien	82%
Chat	10%
Poule	2%
Cheval	2%
Caprin	1%
Lapin	1%
Ovin	1%
Bovin	1%

Les chiens sont majoritairement concernés, en effet ces animaux ingèrent souvent des objets ou composés non comestibles de fait de leur curiosité et de leur comportement exploratoire. Les appâts contiennent des substances amérissantes (benzoate de dénatorium (18)) dans le but d'éviter la consommation par des enfants, malheureusement, les chiens sont peu sensibles à ces substances et ingèrent les appâts sans difficultés (15). Les chiens étant les patients les plus fréquemment atteints, ils sont choisis comme modèle d'étude. Les chats sont moins fréquemment concernés, cela peut s'expliquer par leur régime carnivore strict.

Les intoxications sont le plus souvent accidentelles, elles surviennent chez les jeunes animaux et les jeunes adultes, plus susceptibles de manger l'emballage du raticide et son contenu. Certains chiens sont intoxiqués par consommation d'appâts volontairement contaminés (28). Plus rarement, il est possible d'observer des intoxications suite à l'ingestion de rongeurs contaminés. Quelques cas d'absorption cutanés sont décrits dans la littérature (25) (95).

2. Objectifs de l'étude

Bien que ces intoxications soient fréquentes et bien connues des vétérinaires, il n'existe pas de recommandations officielles concernant la durée de traitement à la vitamine K1 suivant la molécule incriminée. Il paraissait donc intéressant de réaliser un suivi précis des intoxications aux anticoagulants afin de déterminer un seuil à partir duquel il est possible d'arrêter le traitement à la vitamine K1 suivant la molécule incriminée. Le premier objectif de ce travail sera donc :

Objectif 1 : étudier la durée de traitement à la vitamine K1 nécessaire en fonction de la molécule incriminée.

Les AVK de seconde génération sont composés d'un mélange d'isomères cis et trans. Chez le rat, un des deux diastéréoisomère est éliminé de l'organisme plus rapidement que l'autre, sa rémanence dans l'organisme est donc moins importante (30) (29). De plus, les deux diastéréoisomères, utilisés séparément, possèdent la même capacité à inhiber l'activité du complexe VKORC1 et donc le même pouvoir anticoagulant que le mélange d'isomère actuellement mis sur le marché. Dans le but de réduire l'écotoxicité des AVK, il est envisageable de créer une troisième génération d'AVK où le ratio de stéréoisomères serait modifié pour enrichir le produit en sa forme la moins rémanente. Ceci permettrait de diminuer la fréquence des empoisonnements secondaires et notamment, de réduire la durée de traitement à la vitamine K1 chez nos carnivores domestiques. Cependant, il faut au préalable vérifier que le stéréoisomère le moins rémanent chez le rat l'est aussi chez le chien. En conséquence le deuxième objectif sera :

Objectif 2 : étudier la cinétique des diastéréoisomères des molécules de seconde génération chez le chien.

En ce qui concerne le diagnostic, la méthode la plus fréquemment utilisée, aujourd'hui, est la réalisation du temps de Quick. Il a été montré, chez le rat, que la méthode la plus sensible, permettant de monitorer les intoxications aux AVK, est le suivi de l'activité des facteurs VII et X. Ceux-ci évoluent plus rapidement que le temps de Quick. Le facteur X semble être le facteur le plus approprié pour monitorer les intoxications aux raticides anticoagulants (96).

De plus, le suivi des intoxications utilise toujours la même matrice : le plasma. Dans cette étude nous proposons de suivre l'évolution des concentrations en anticoagulants dans les selles dans le but de trouver une concentration à partir de laquelle il serait possible d'arrêter le traitement à la vitamine K1.

Objectif 3 : recherche de nouveaux outils pour améliorer le diagnostic et le suivi des intoxications aux raticides anticoagulants

Enfin, les résistances aux raticides anticoagulants sont nombreuses chez les rongeurs. Elles regroupent les résistances de cibles et les résistances métaboliques. La résistance de cible est liée à la mutation du gène *vkorc1*, elle est bien connue chez les rongeurs. Nous nous proposons dans cette étude de séquencer ce gène afin de connaître le statut génotypique VKORC1 des chiens intoxiqués, mais ceci fera finalement l'objet d'une autre étude.

L'étude a été validée par le comité d'éthique de Vetagro Sup.

B. Matériels et méthodes

1. Recrutement des cas

a) *Recrutement des vétérinaires*

Le recrutement de chien pour notre étude a, tout d'abord, nécessité de recruter des vétérinaires. Ces derniers, lorsqu'ils étaient face à un cas d'intoxications aux anticoagulants, proposaient au propriétaire de l'animal de le faire entrer dans l'étude. Les vétérinaires contactés étaient prioritairement des connaissances du personnel impliqué dans l'étude et sont implantés dans toute la France métropolitaine.

b) *Recrutement des chiens*

(1) Population témoin

Un groupe de chien témoin est a été créé. Il rassemble des chiens sains, non intoxiqués, de tout âge, tout sexe et de toute race. On réalise sur chaque chien un prélèvement sanguin afin de collecter du plasma. Il permet de déterminer les valeurs normales du temps de Quick et de concentration des facteurs de coagulation vitamine K dépendants (II, VII, IX et X) dans le plasma. Cette validation a fait l'objet d'un autre travail de thèse d'exercice.

Aucun dosage des anticoagulants n'a été réalisé dans le sang ou dans les fèces puisque la méthode utilisée a déjà été validée.

(2) Population étudiée

Les chiens recrutés pour l'étude peuvent être des mâles ou des femelles, de tout âge et de toute race. L'objectif est de recruter au minimum une vingtaine de cas. Pour que l'animal puisse rentrer dans le groupe de chien étudié, le vétérinaire doit constater la présence de signes cliniques évocateurs d'une intoxication tels que des muqueuses pâles, un signe de saignement (hémoptysie, vomissement, diarrhée hémorragique, etc) éventuellement associé à des signes plus ou moins spécifiques (léthargie, anorexie, dyspnée, etc). Les chiens peuvent également être inclus lorsqu'ils ne présentent pas de signes cliniques, seulement si, les propriétaires ont constaté l'ingestion d'un raticide.

Les chiens seront exclus s'ils ont déjà reçu de la vitamine K1 avant le premier prélèvement sanguin. Le chien sera sorti de l'étude si les résultats des prélèvements plasmatiques et fécaux effectués lors de la visite d'inclusion excluent l'intoxication aux AVK.

2. Déroulement de l'étude

Des prélèvements sanguins et fécaux sont réalisés tout au long du traitement à la vitamine K1, permettant un suivi précis de la concentration en anticoagulant dans les substrats.

a) *Planning de l'étude*

Le suivi d'un cas comprend trois visites chez le vétérinaire (J0, J23, J28). Les deux dernières visites pourront être réalisées à plus ou moins trois jours par rapport à la date prévue. Le calendrier des prélèvements et des collectes est représenté dans le Tableau XIV. Le traitement à la vitamine K1 doit systématiquement être interrompu deux jours avant les prélèvements sanguins. Les propriétaires effectuent, en parallèle, cinq collectes de selles (J0, J7, J14, J21 et J28 +/- 3 J) qu'ils envoient par la suite au laboratoire de Vetagro Sup.

Les chiens inclus dans l'étude sont numérotés de la façon suivante : PIR-001, PIR-002, PIR-003, etc.

Les chiens sont inclus dans l'étude pour une durée variant de 3 à 6 semaines, selon la durée nécessaire de traitement à la vitamine K1.

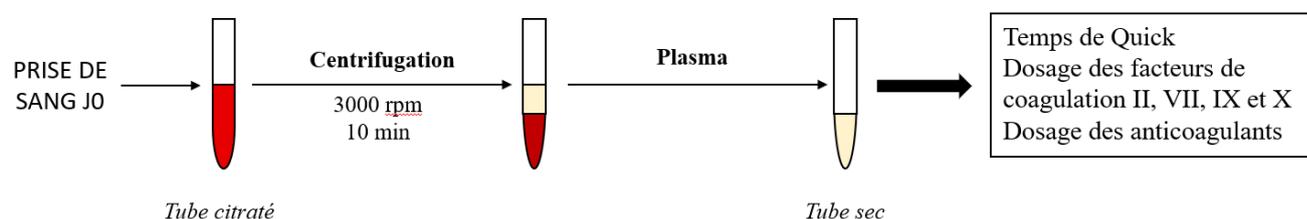
Tableau XIV: Planning de l'étude

	Visite d'inclusion	Collecte	Collecte	Collecte	Collecte		Visite de suivi	Collecte		Visite de suivi		
Visites	V1	C1	C2	C3	C4		V2	C5		V3		
Jours	J0	J0	J7	J14	J21	J21	J23 +/- 3j	J28 +/- 3j	J28 ou J35	J30 ou J37 +/- 3j		
Consentement éclairé	X					Arrêt du traitement			Arrêt du traitement			
Vérification critères inclusion / exclusion	X											
Âge	X											
Sexe	X											
Race de chien	X											
Poids	X											
Prélèvement plasma	X							X				X
TQ	X							X				X
Facteurs de coagulation II, VII, IX ,X	X							X				X
Dosage anticoagulants	X							X				X
Prélèvement fèces	X	X	X	X	X			X				
Dosage anticoagulants	X	X	X	X	X			X				

(1) Visite d'inclusion : visite 1

Lors de la première visite, le vétérinaire suspecte une intoxication aux rodenticides, il propose alors au propriétaire d'inclure le chien dans l'étude. A l'aide d'un schéma décisionnel (Annexe 1), il vérifie que l'animal correspond aux critères d'inclusion. Dans ce cas, le vétérinaire fait signer un « formulaire de consentement » au propriétaire. (Annexe 2). Il documente ensuite la « fiche inclusion » (Annexe 3), qui répertorie les coordonnées des deux partis ainsi que des informations concernant le chien et les circonstances de l'intoxication. Le propriétaire reçoit un « cahier patient » (Annexe 4) dans lequel un calendrier précis des différentes étapes du protocole sont décrites, ainsi que des explications concernant la marche à suivre pour la collecte de selles. Enfin le vétérinaire réalise un prélèvement sanguin sur tube citraté qui sera, au préalable, centrifugé, s'il possède l'équipement nécessaire, puis le plasma transvasé sur un tube sec avant d'être envoyé. Ce prélèvement permettra de mesurer le temps

de Quick, de doser les facteurs de coagulation II, VII, IX et X et de doser les anticoagulants (Figure 24).



Si le vétérinaire ne possède pas de centrifugeuse il peut envoyer directement les deux tubes citratés.

Figure 24: Prélèvements sanguins réalisés à J0

Le traitement à la vitamine K1 est instauré seulement lorsque les prélèvements sanguins ont été réalisés. La vitamine K1 est administrée par voie orale si le chien est capable de manger et que son état clinique est compatible avec une initiation du traitement par voie orale, sinon l'administration se fera par voie intraveineuse. Pour terminer, le vétérinaire remet au propriétaire l'ensemble des kits pour permettre le prélèvement et leur envoi à Vetagro Sup tels que planifiés dans le protocole. Il détermine également la date de la prochaine visite qui devra avoir lieu trois semaines plus tard. Le propriétaire devra arrêter le traitement 48h avant la consultation.

(2) Visite de suivi : visite 2

Au cours de la deuxième visite, le vétérinaire réalise un examen clinique complet de l'animal. Il prélève ensuite du sang sur tube citraté, après s'être assuré que les propriétaires aient bien arrêté l'administration de vitamine K1 48h auparavant. Comme pour la première visite, il centrifuge le sang, transfère le plasma sur un tube sec et envoie le prélèvement à Vetagro Sup afin que le temps de Quick soit évalué et les différents dosages réalisés.

A la suite de la consultation, le vétérinaire prescrit à nouveau la vitamine K1 pour une durée variable selon les résultats du temps de Quick. Si le résultat est normal, le propriétaire arrêtera définitivement le traitement et effectuera un dernier prélèvement de selle. Si le résultat est supérieur à la normale, le traitement sera poursuivi 7 ou 14 jours suivant l'anticoagulant incriminé, puis le propriétaire consultera un vétérinaire pour la troisième visite de suivi. La démarche à suivre lors de la seconde visite est décrite sur la Figure 25.

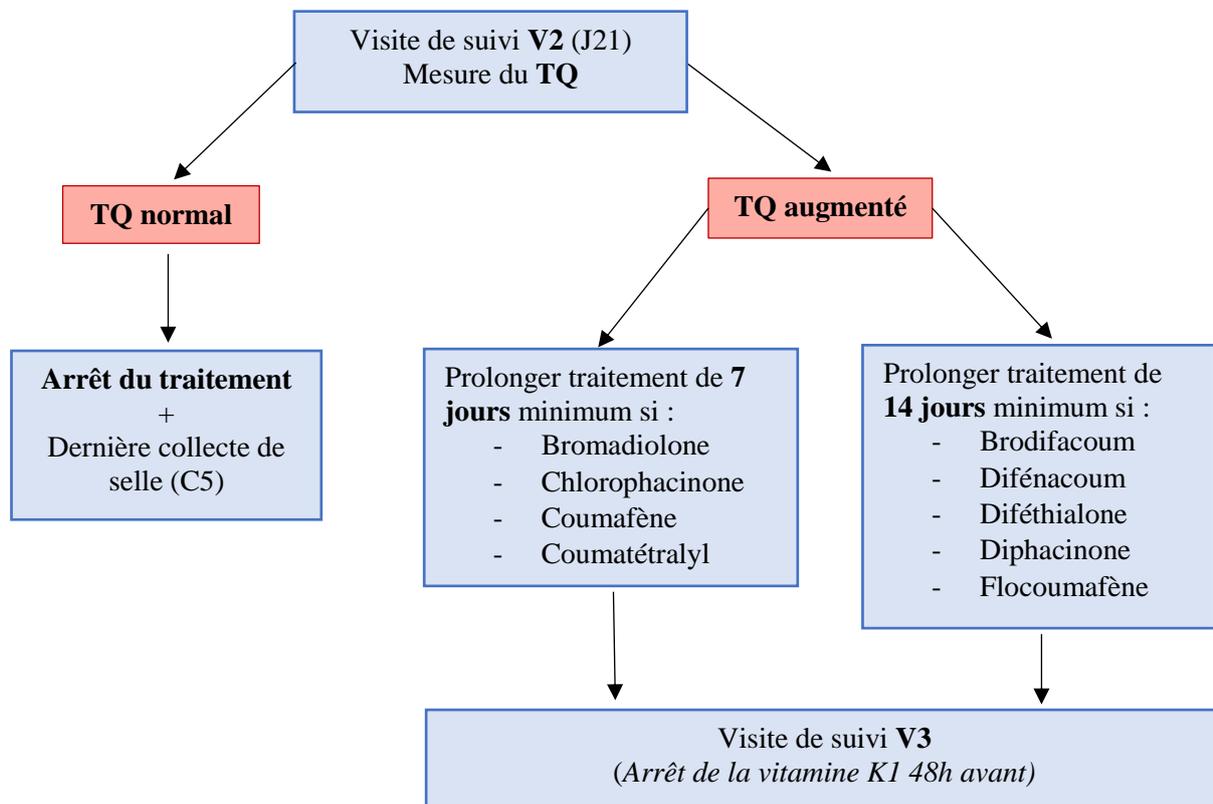


Figure 25: Protocole à suivre lors de la 2ème visite

Les durées de traitement ci-dessus sont données à titre indicatif, aucune bibliographie ne permet de définir des durées de traitement exactes.

(3) Visite de suivi : visite 3

La troisième visite de suivi s'effectue à J30 +/- 3 jours ou J37 +/- 3 jours (Figure 26). Le propriétaire devra interrompre le traitement 48h avant la consultation. Les prélèvements sanguins réalisés sont identiques à ceux de la deuxième visite et sont traités de la même façon.

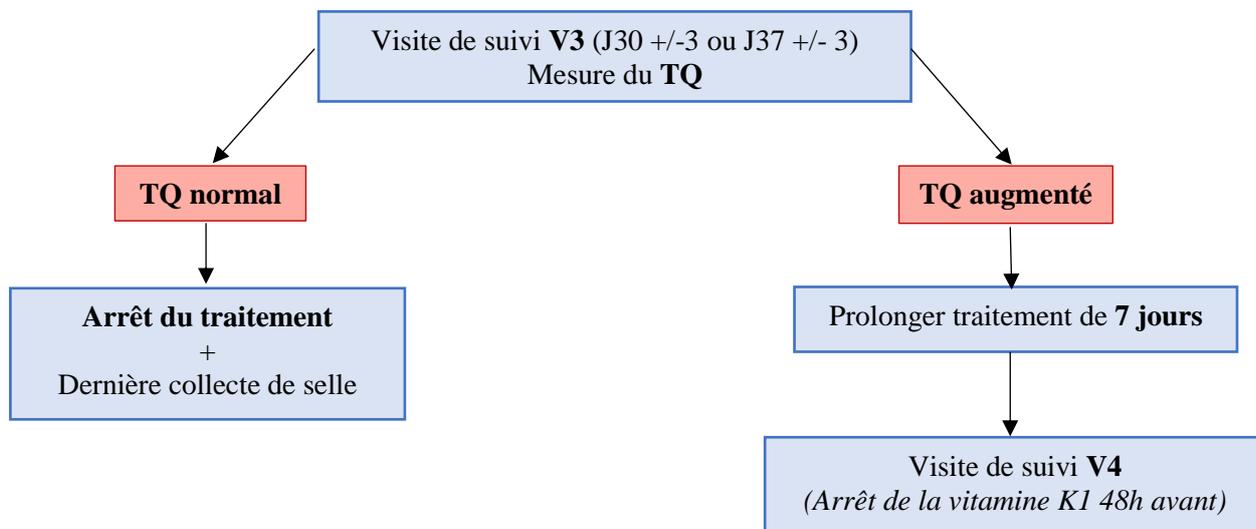


Figure 26: Protocole à suivre lors de la 3ème visite

(4) Visite supplémentaire : visite 4

Une quatrième visite peut être nécessaire si temps de Quick ne s'est pas normalisé lors de la troisième visite. Le vétérinaire réalise les prélèvements habituels une semaine après la troisième visite. Si le traitement à la vitamine K1 n'est toujours pas efficace il faudra se poser la question d'une recontamination par des anticoagulants.

(5) Collecte de fèces

Les propriétaires doivent prélever les fèces du chien, toutes les semaines, à partir du jour d'inclusion (J0). Les selles seront collectées à l'aide d'un gant. Le tout sera déposé dans un flacon opaque puis envoyé à Vetagro Sup via le colis fournis par le vétérinaire.

b) Envoi des prélèvements

Le transport des échantillons sanguins et fécaux respecte la réglementation de l'ADR (Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route) puisque chaque échantillon est contenu dans un emballage primaire étanche (tube de prélèvement ou pot de prélèvement), puis dans un emballage secondaire étanche (sachet étanche à usage unique) et enfin dans un emballage tertiaire (carton).

L'ensemble des colis, contenant le nécessaire à la réalisation des prélèvements, est remis au propriétaire au début de l'étude. La Figure 27 illustre le contenu des colis destinés à l'envoi des prélèvements sanguins et la Figure 28 le contenu des colis destinés à l'envoi des prélèvements de selles.



Figure 27: Colis permettant l'envoi des prélèvements sanguins (crédit photo personnel)



Figure 28: Colis permettant l'envoi des fèces (crédit photo personnel)

c) *Traitement administré au cours de l'étude*

Les chiens seront traités avec de la vitamine K1. Elle existe sous forme injectable ou sous forme de comprimé.

La vitamine K1 injectable TVM contient 10 mg de phytomédiandone par mL de solution (Figure 29). Elle est indiquée dans le traitement d'urgence des intoxications par les rodenticides anticoagulants. Elle est administrée par voie intraveineuse lente à la dose de 5 mg/kg soit 0,5 mL/kg. Un relai par voie orale est ensuite mis en place. Une nouvelle injection de vitamine K1 peut être effectuée 12 à 18 heures après la première si le traitement par voie orale n'est pas encore envisageable (animal comateux par exemple) (97).

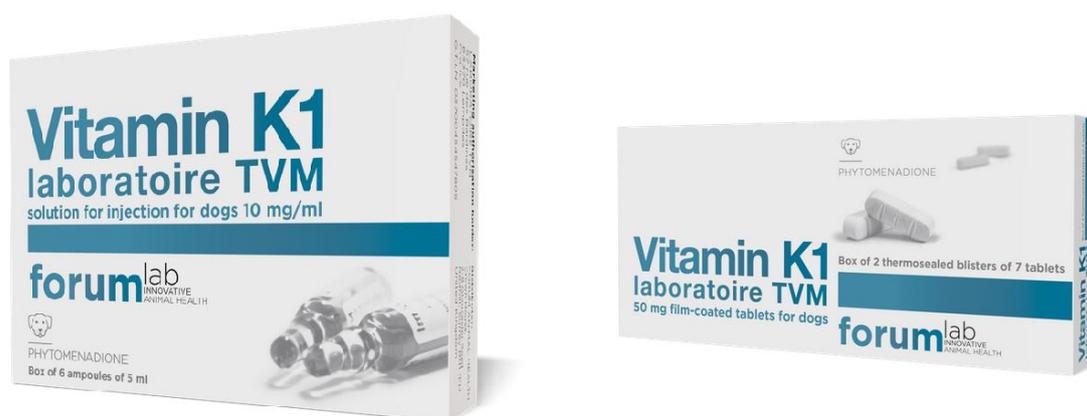


Figure 29: Les différentes présentation de la vitamine K1 (TVM®)

La vitamine K1 comprimé TVM est dosée à 50mg de phytomédiandone par comprimé. Elle est indiquée dans le traitement d'urgence des intoxications par les rodenticides anticoagulants, en relai d'un traitement par voie parentérale. La vitamine K1 est administrée à

la dose de 5mg/kg soit 1 comprimé pour 10kg, une fois par jour et en une seule prise. Il est recommandé d'effectuer un traitement d'une durée de 3 semaines puis d'évaluer l'hémostase, via la mesure du temps de Quick, 48h après la dernière administration de vitamine K1. Si le temps de Quick est allongé, il faut prolonger le traitement jusqu'à ce qu'il soit normal, 48h après l'arrêt du traitement (98).

d) Analyses biologiques

Les analyses biologiques sont réalisées dans les locaux de Vetagro Sup à Marcy l'Etoile.

(1) Analyses effectuées à partir du plasma

Comme expliqué précédemment, le sang du patient est prélevé sur tube citraté, centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min puis le plasma est transvasé sur tube sec. Si le vétérinaire ne possède pas de centrifugeuse, il peut envoyer directement le tube citraté à Vetagro Sup.

Le plasma reçu est, ensuite, aliquoté pour les différentes analyses (Tableau XV)

Tableau XV: Analyses réalisées à partir du plasma

Analyses	Quantité	Conservation
Temps de Quick	200 µL	Température ambiante
Dosage des facteurs de coagulation II, VII, IX et X	150 µL	-80°C, à l'abri de la lumière
Dosage des anticoagulants	500 µL	-20°C, à l'abri de la lumière

(a) Temps de Quick

Le temps de Quick est en moyenne de 7 à 9 secondes. D'une façon générale, les temps de coagulation peuvent varier d'un kit à l'autre, il est donc nécessaire d'avoir une valeur témoin, mesurée sur un chien sain. On considère que le temps de Quick est augmenté de façon significative lorsqu'il est supérieur à 25% par rapport au témoin sain.

La mesure du temps de Quick se fait à partir de l'aliquot de plasma conservé à température ambiante. L'analyse est réalisée sur un appareil *Biomérieux Option 2 plus* par une personne formée selon les recommandations du fournisseur, dans les 24 heures suivant la réception de l'échantillon. Le temps de Quick est évalué à partir de plasma sur tube citraté auquel on ajoute 100 µL de thromboplastine (Néoplastine CI, INR Determination kit). L'automate mesure le temps nécessaire à la formation du caillot.

Les résultats sont transmis au vétérinaire dans les 24 heures suivant la réception de l'échantillon.

(b) Facteurs de coagulation

Les facteurs dosés sont les facteurs fonctionnels, c'est-à-dire les facteurs gamma-carboxylés : II, VII, IX et X. L'activité des facteurs vitamine K dépendants est mesurée sur plasma citratée par méthode chromogénique à l'aide du *Konelab 30i* (Thermoscientific). Les réactifs utilisés proviennent du laboratoire *Hyphen Biomed*.

Le facteur II est activé par l'incubation de plasma citraté avec 0,25 mg/mL de venin d'Echis Carinatus dans un tampon Tris (Tris-buffer) (0,1 mM Tris HCl, pH 8,3 à 25°C, 0,2 % BSA) à 37 °C pendant 10 min. Puis, on ajoute 50 µg de substrat chromogène de la thrombine et on mesure l'absorbance de la solution à 405 nm pendant 1 min.

L'activité du facteur VII est évaluée par incubation de plasma citraté en présence de calcium et de facteur tissulaire en excès permettant la formation de complexe ténase. Une concentration saturante de facteur X humain est ajoutée. Le facteur X est activé en facteur Xa proportionnellement à la quantité de complexe ténase formée. Un substrat chromogénique spécifique est ajouté à la solution. Il produit de para-nitroaniline en présence du facteur Xa. La formation de la para-nitroaniline est mesurée par absorbance à 405 nm pendant 2 min et reflète l'activité du facteur Xa.

L'activité du facteur IX est évaluée par l'incubation de thrombine, de calcium, de phospholipide et de facteur X_{II} en présence de plasma citraté. On ajoute ensuite le facteur VIII :C et le facteur X. Puis, on ajoute 50 µg de substrat chromogène de la thrombine et l'absorbance est mesurée à 405 nm pendant 1 minute.

Le facteur X est activé après l'ajout de venin de vipère de Russell. On ajoute à la solution 50 µg de substrat chromogène de la thrombine et l'absorbance est mesurée à 405 nm pendant 2 minutes.

(c) Dosage du ou des anticoagulants dans le plasma

Une recherche de l'anticoagulant est effectuée dans le plasma afin de connaître le nom de la molécule incriminée ainsi que l'évolution de sa concentration au cours du temps.

On prélève 200 µL de plasma que l'on place dans 4 mL d'acétone. La solution subit une séquence de cycle au rotator PTR-60 (orbital (rpm) 60/04, reciprocal (deg) 30°/05, Vibro/pause 5°/5, Time (hr : min) 0 :30). La solution est centrifugée à 3000 tours/min pendant 5 min. Le surnageant est évaporé à 40°C sous un flux d'azote. Le tout est repris dans 100 µL d'acétonitrile puis vortexé 10 secondes à deux reprises. Le surnageant est transvasé dans un vial et insert.

La solution est ensuite injectée en LC-MS/MS, la méthode a été décrite par FOUREL et al (99). Une première étape de chromatographie en phase liquide permet la séparation des trois AVK de première génération (warfarine, coumatétralyl, chlorophacinone) et des couples de diastéréoisomères des cinq AVK de seconde génération (bromadiolone, brodifacoum, difénacoum, diféthialone, flocoumafène). La deuxième étape correspond à la spectrométrie de masse à triple quadrupole permettant l'identification de la molécule.

La limite de détection de cette méthode est de 1 à 2 ppb pour un volume initial de 200 µL de plasma.

Le résultat du dosage est communiqué au vétérinaire dans les 7 jours suivant la réception du colis.

(2) Analyses réalisées à partir des fèces

Un dosage des anticoagulants est effectué dans les fèces, une fois par semaine pendant toute la durée du traitement. Les selles sont collectées par le propriétaire via un kit de prélèvement (figure 28).

A la réception du colis, les fèces sont séchées à l'étuve puis broyées. Une première étape d'extraction à l'acétone est réalisée. On prélève 0,5 g de selles broyées que l'on place avec 10 mL d'acétone. La solution est vortexée, laissée au repos 1 h puis subit une séquence de cycle au rotator PTR-60 (orbital (rpm) 60/04, reciprocal (deg) 30°/05, Vibro/pause 5°/5, Time (hr : min) 0 :10). La solution est centrifugée à 3000 rpm pendant 5 min. Le surnageant est évaporé à 40°C sous un flux d'azote. Le tout est repris dans 200 µL d'acétonitrile. La solution est vortexée à deux reprises puis transférée dans un vial et insert.

La solution est ensuite injectée en LC-MS/MS, comme décrit ci-dessus.

Le résultat est envoyé au vétérinaire dans les 7 jours suivant la réception du colis.

e) Sondage des produits retrouvés à la vente

Afin de pouvoir comparer les molécules incriminées lors des intoxications et les molécules vendues dans le commerce, nous avons relevé les différents types de raticides anticoagulants proposés à la vente dans des magasins type jardinerie ou grande surface.

3. Analyse des résultats

Aucune analyse statistique des données ne sera réalisée au vu du faible nombre de chien qu'il est prévu d'inclure. Cette étude est une étude préliminaire ayant pour but de se rendre compte si elle est réalisable à plus grande échelle.

C. Résultats de l'étude

1. Descriptif de la population recrutée

Un total de 13 vétérinaires, appartenant à 11 cliniques différentes, ont recruté des cas au cours de l'étude. Cela a permis d'inclure 21 chiens dans l'étude.

La majorité des animaux sont des femelles : 17 femelles pour 4 mâles. Les chiens sont âgés de 6 mois à 13 ans (médiane à 4 ans et demi) et pèsent entre 7,5 et 44 kg (médiane à 24 kg).

Les races de chiens représentées sont : Beauceron (2), Border collie (2), croisé Border collie (1), Golden retriever (1), croisé Golden retriever (1), Pointer (1), Braque d'Auvergne (1), Setter anglais (1), Fox terrier (1), Lhasa apso (1), Epagneul breton (1), Petit munsterlander (1), Berger des Pyrénées (1), Malinois (1), Braque allemand (1), Griffon (1), Berger allemand (1), Hovawart (1) et Welsh corgi (1).

Parmi les animaux recrutés, 13 chiens (62%) ont des symptômes au moment de l'entrée dans l'étude : 5 présentent des muqueuses pâles (24%), 6 des signes de saignement (38 %) et 10 présentent d'autres symptômes (48%). Enfin, 7 chiens ne présentent pas de symptômes (33%) et pour un seul chien l'information n'est pas renseignée au moment de l'inclusion dans l'étude (5%). Les résultats sont synthétisés dans le Tableau XVI.

Tableau XVI: Absence ou présence de symptômes lors de la visite d'inclusion

	Symptômes	<i>Pâleur des muqueuses</i>	<i>Saignement</i>	<i>Autres</i>	Absence de symptômes	Non renseigné
Nombre de chien	13	5	8	10	7	1
Pourcentage de chien	62	24	38	48	33	5

Parmi nos 21 chiens, l'ingestion de l'appât anticoagulant a été visualisée pour 8 chiens (38%), non visualisée pour 11 chiens (52%) et l'information n'était pas renseignée pour 2 chiens (10%).

2. Résultats des chiens inclus dans l'étude

Le tableau de résultat est détaillé dans l'annexe 5.

a) Nombre d'échantillons reçus

Le nombre total d'échantillons reçus pour l'ensemble des chiens inclus dans l'étude est représenté sur l'histogramme ci-dessous (Figure 30). La totalité des prélèvements ont été envoyés à V1 et C1. Concernant les échantillons sanguins, 57,1 % ont été envoyés pour V2 et aucun prélèvement n'est effectué pour V3. A propos des collectes de fèces, 90 % des échantillons ont été envoyés pour C2, 57,1 % pour C3, 33,3 % pour C4 et 9,5 % pour C5.

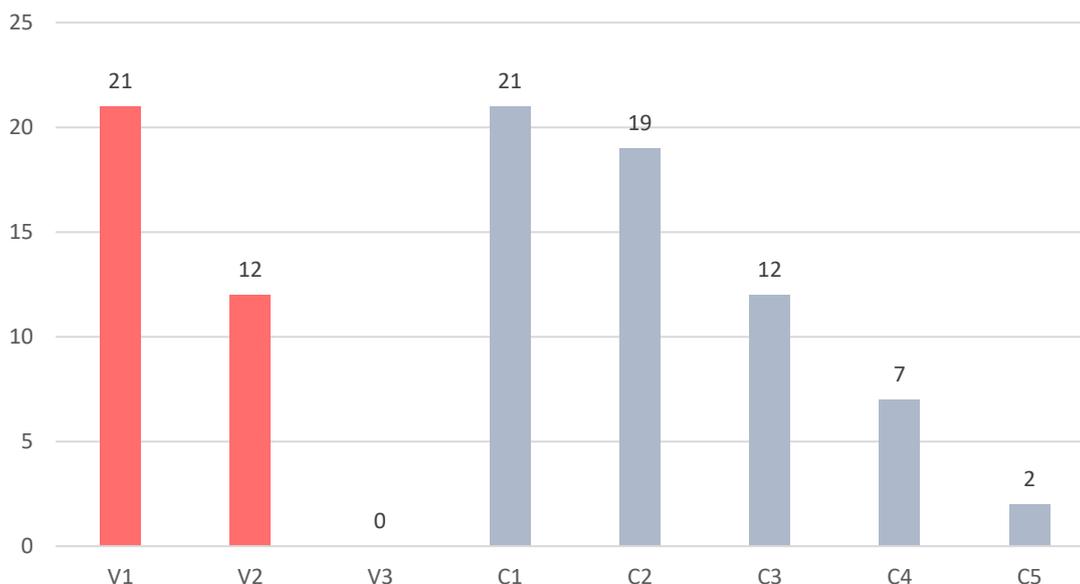


Figure 30: Nombre d'échantillons reçus pour l'ensemble des chiens de l'étude

b) Etude de la population recrutée

Le tableau de résultat répertoriant les temps de Quick, et les dosages d'anticoagulant dans le plasma et les fèces est disponible en annexe.

c) Etude des animaux intoxiqués

Les vétérinaires ont inclus les chiens dans l'étude, soit parce leurs propriétaires suspectaient une intoxication aux raticides anticoagulants, soit parce qu'ils présentaient un tableau clinique compatible avec ce type d'intoxication. Une fois les échantillons sanguins ou fécaux analysés, il est possible de diviser la population étudiée en deux classes : les chiens intoxiqués aux raticides et les chiens non intoxiqués aux raticides pour lesquels le dosage des anticoagulants est négatif et le temps de Quick est dans les valeurs usuelles. Ainsi, on distingue 7 animaux non intoxiqués (PIR-003, PIR-004, PIR-005 Arvie, PIR-012, PIR-024 G, PIR-024 M, PIR-032) soit 33,3 % de la population étudiée.

Pour les 14 chiens intoxiqués (66,7%), les résultats sont détaillés dans les histogrammes suivants. Pour chaque animal, on répertorie le temps de Quick, les molécules retrouvées dans le plasma et les selles, leur concentration ainsi que les concentrations de leurs diastéréoisomères.

Le temps de Quick est mesuré sur des chiens sains, permettant ainsi de déterminer les valeurs usuelles avec notre automate, soit 7 à 9 secondes. Le temps de Quick est considéré comme augmenté lorsqu'il dépasse 25% de sa valeur normale.

Certains vétérinaires ayant utilisé le même colis pour deux chiens appartenant à un seul propriétaire, le nom des chiens inclus dans l'étude peuvent être sous la forme « PIR-XXX + nom du chien comme c'est le cas pour « PIR-005 Arvie » et « PIR-005 Arka » ou « PIR-001 C » et « PIR-001 J ».

(1) PIR-001 C

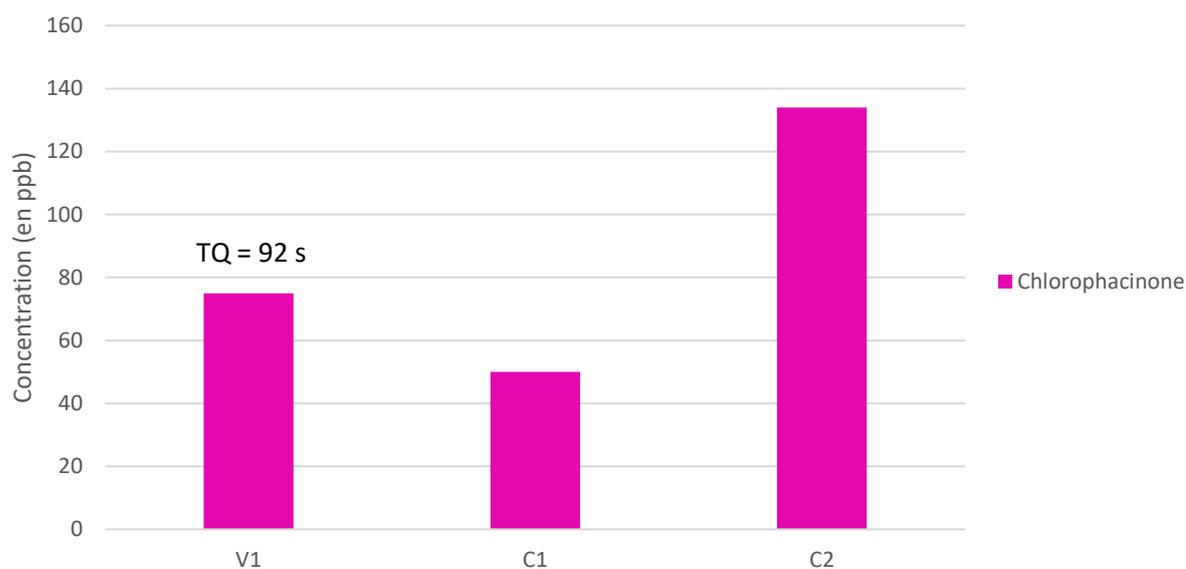


Figure 31: Résultat chien PIR-001 C

Le chien PIR-001 C (Figure 31) présente un TQ augmenté à la visite d'inclusion (V1) et la molécule responsable de l'intoxication est la chlorophacinone. La concentration en chlorophacinone augmente dans les selles au cours du temps.

(2) PIR-001 J

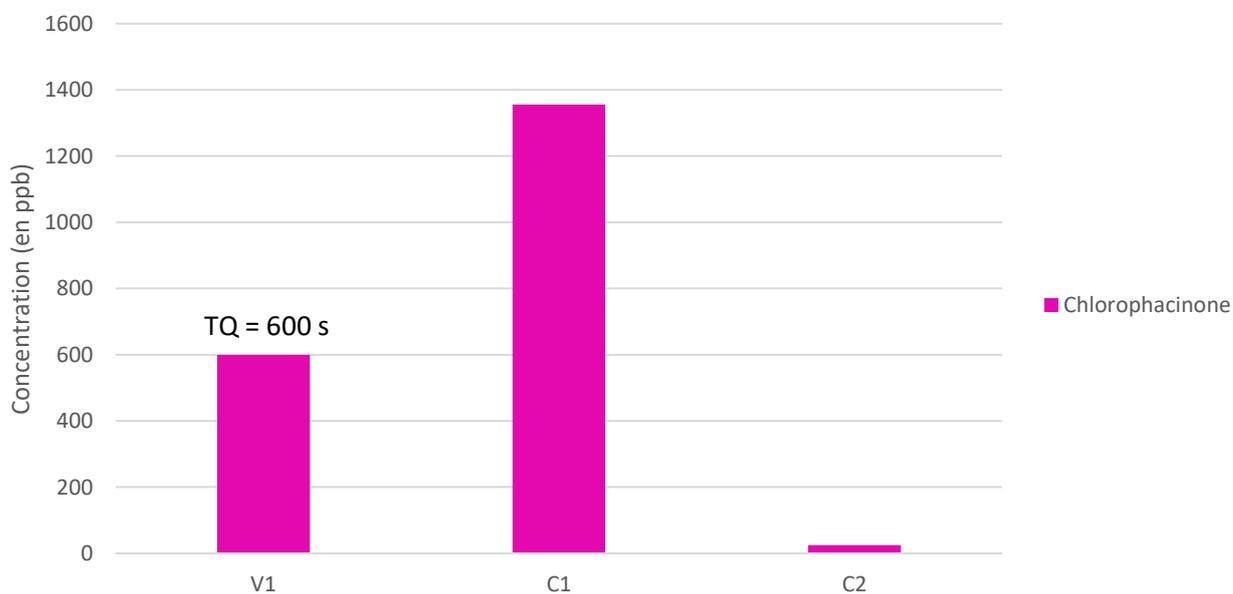


Figure 32: Résultat chien PIR-001 J

Le chien PIR-001 J (Figure 32) présente un TQ augmenté à la visite d'inclusion (V1) et la molécule responsable de l'intoxication est la chlorophacinone. La concentration en AVK diminue dans les selles au cours du temps.

(3) PIR-002

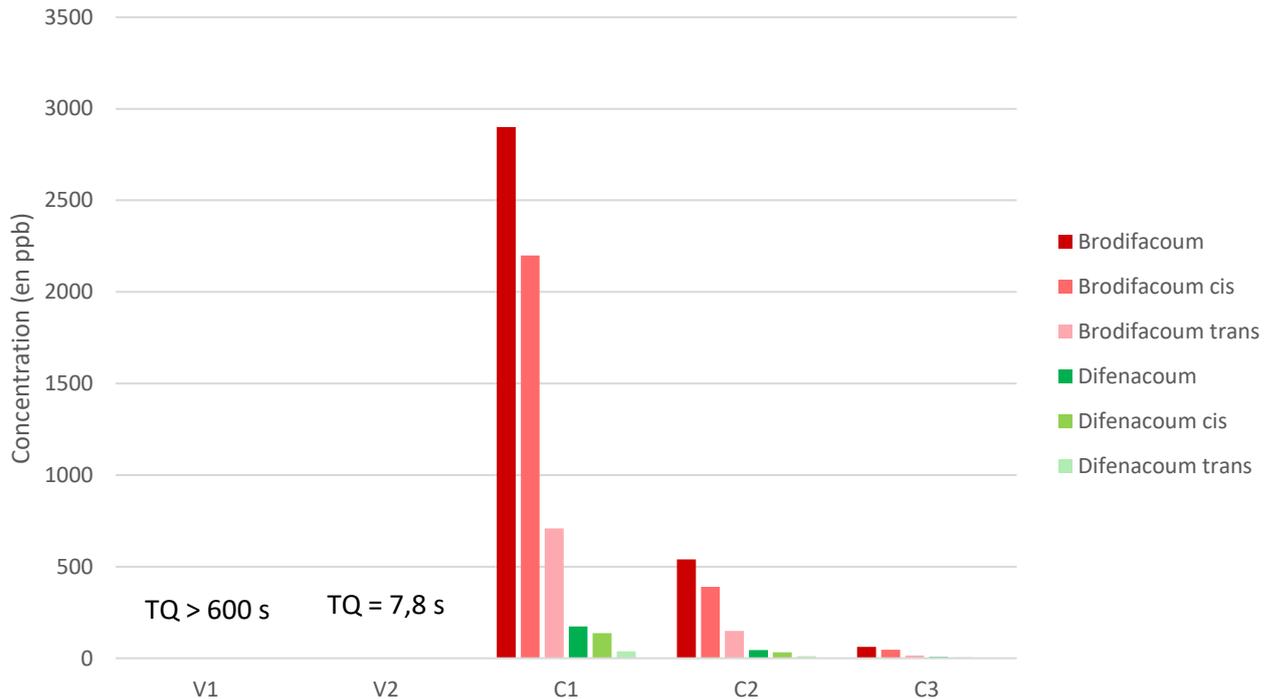


Figure 33: Résultat chien PIR-002

Le chien PIR-002 C (Figure 33) présente un TQ augmenté à la visite d'inclusion (V1) mais aucun AVK n'est détecté dans le plasma. Du brodifacoum ainsi que du difénacoum sont présents dans les selles pendant au moins 14 jours. Leur concentration diminue au cours du temps. La présence de difénacoum en faible quantité dans les selles peut s'expliquer par la persistance importante des AVK dans les fèces.

(4) PIR-005 Arka

Le chien PIR-005 (Figure 34) Arka présente du difénacoum dans le plasma à V1 et V2 ainsi que dans les selles. Le temps de Quick est cependant dans les valeurs usuelles pour les deux visites. Une faible quantité de bromadiolone est détectée dans le plasma à V1 ainsi que dans les selles à C1. La concentration en difénacoum dans les selles diminue jusqu'à C3 puis on note la présence d'un pic à C4. L'isomère trans du difénacoum disparaît plus rapidement dans le plasma et dans les selles que l'isomère cis.

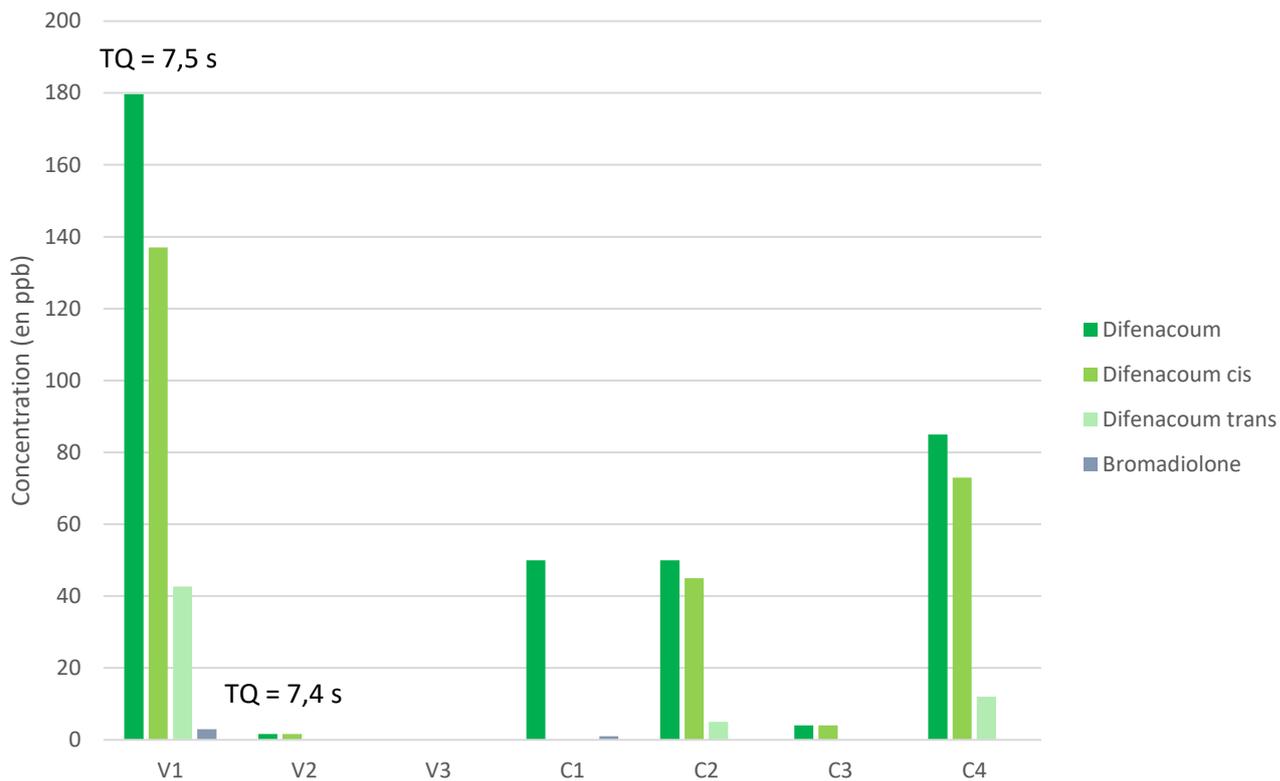


Figure 34: Résultat chien PIR-005 Arka

(5) PIR-006

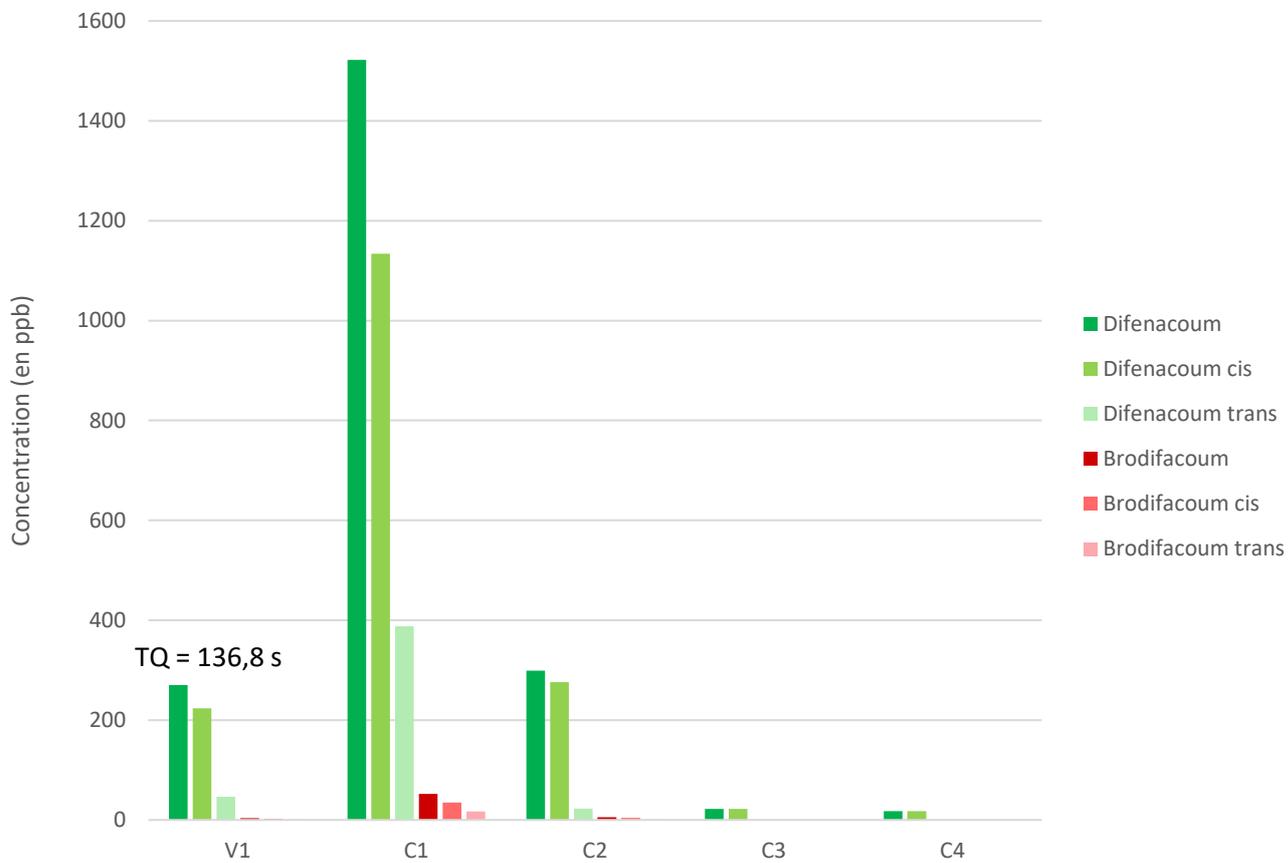


Figure 35: Résultat chien PIR-006

Le plasma et les fèces du chien PIR-006 (Figure 35) contiennent du difénacoum ainsi que du brodifacoum en plus faible quantité. Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1). La concentration en difénacoum dans les selles diminue au cours du temps. L'isomère trans du difénacoum n'est plus détectable à C3 alors que l'isomère cis l'est toujours.

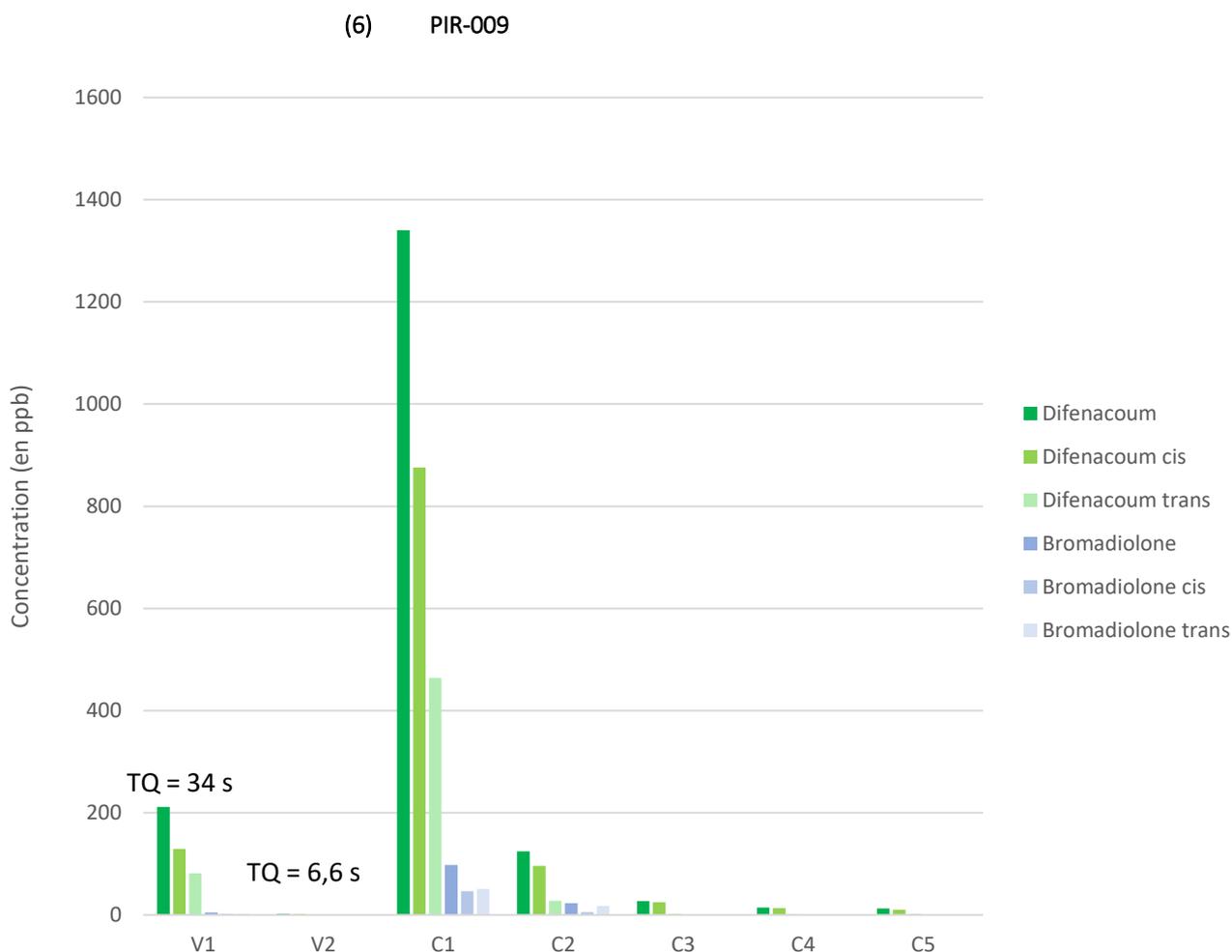


Figure 36: Résultat chien PIR-009

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1) puis normalisé à V2 (Figure 36). Du difénacoum est détectable dans le plasma ainsi que dans les selles jusqu'à la dernière collecte. De la bromadiolone est également présente en faible quantité dans le plasma et dans les deux premières collectes de selles. La concentration en difénacoum et bromadiolone diminue dans le plasma et dans les selles au cours du temps.

L'isomère trans du difénacoum n'est plus détectable à partir de C3, contrairement à l'isomère cis qui persiste jusqu'à C5. Concernant la bromadiolone, l'isomère cis semble disparaître plus rapidement des selles.

(7) PIR-010

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1) et du coumatétralyl est présent dans le plasma à V1 et dans les selles à C1 (Figure 37).

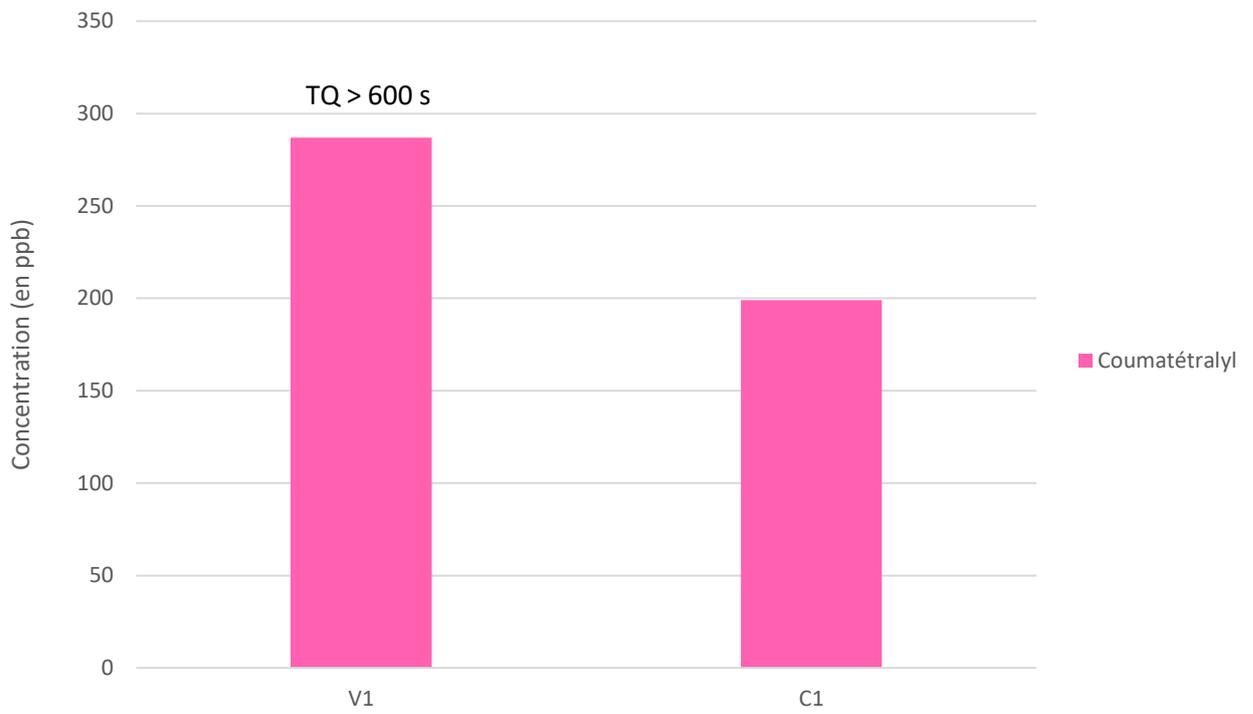


Figure 37: Résultat chien PIR-010

(8) PIR-013

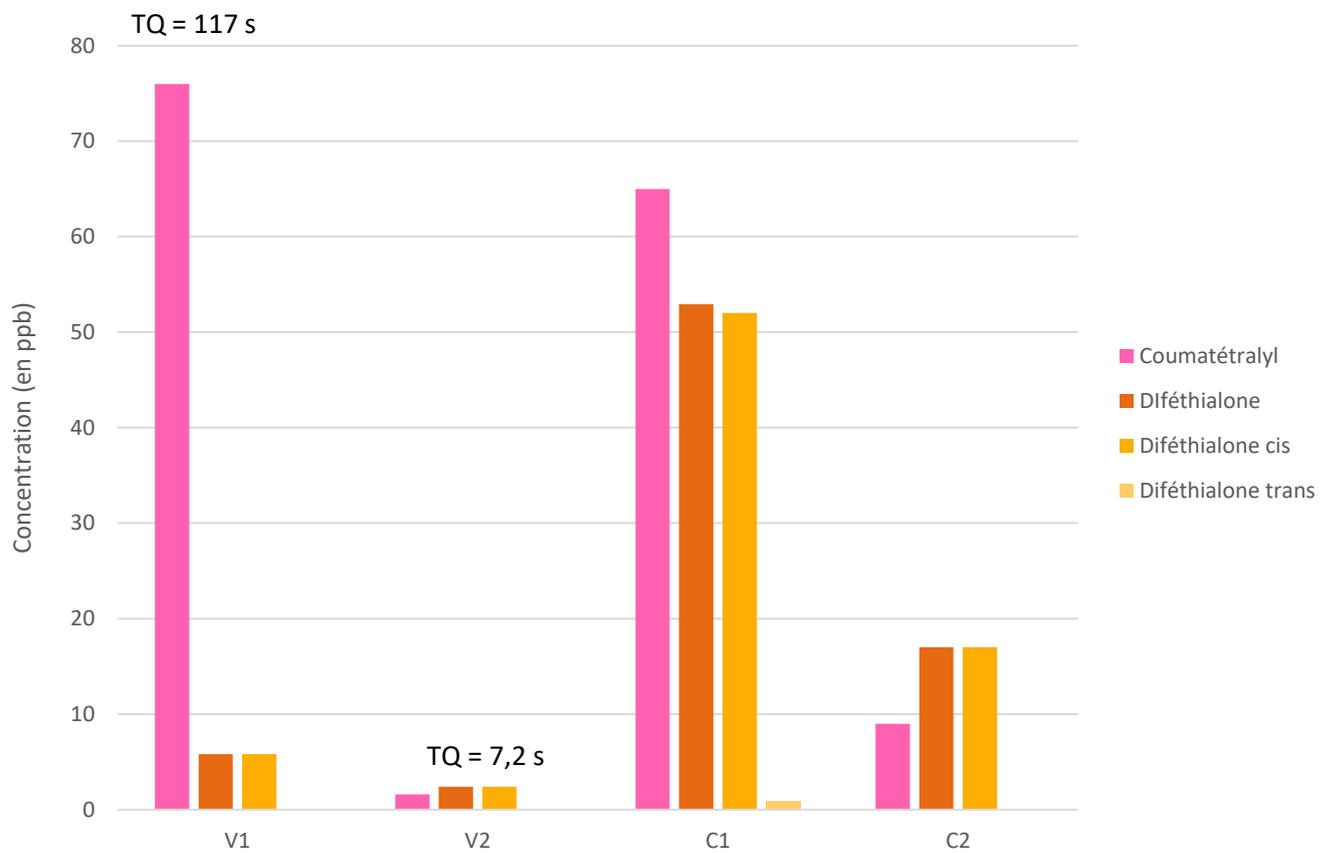


Figure 38: Résultat chien PIR-013

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1) puis se normalise à V2 (Figure 38). Du coumatétralyl et de la diféthialone sont détectés dans le plasma à V1 et V2 ainsi que des dans selles jusqu'à C2. Leur concentration diminue au cours du temps que ce soit dans le plasma ou dans les selles.

L'isomère trans de la diféthialone est présent en faible proportion par rapport à l'isomère cis et n'est plus détectable à C2.

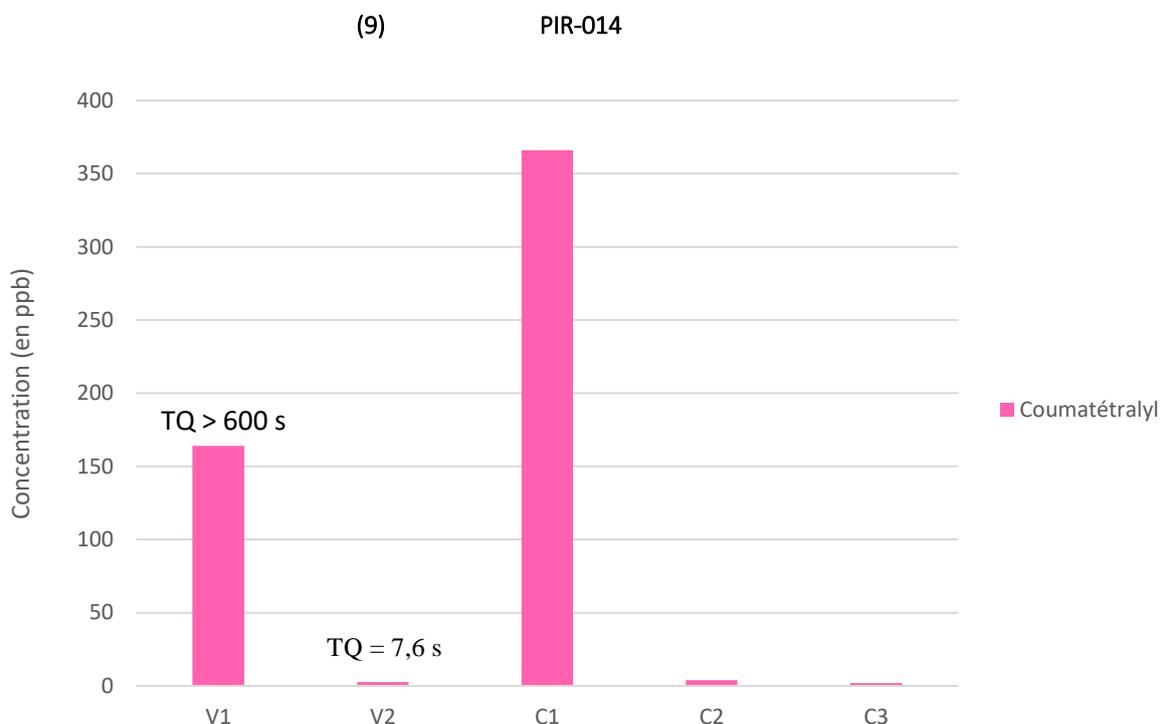


Figure 39: Résultat chien PIR-014

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1) puis de normalise à V2 (Figure 39). Du coumatétralyl est présent dans le plasma à V1 et V2 et dans les selles dans les trois collectes réalisées. La concentration en coumatétralyl dans le sang et dans les selles diminue au cours du temps.

(10) PIR-016

Le TQ réalisé lors de la visite d'inclusion (V1) n'est pas interprétable, cependant on détecte, dans le plasma et dans les selles, de la diféthialone, il s'agit principalement de l'isomère cis (Figure 40). La concentration en diféthialone dans les selles diminue fortement à C2 puis semble rester constante.

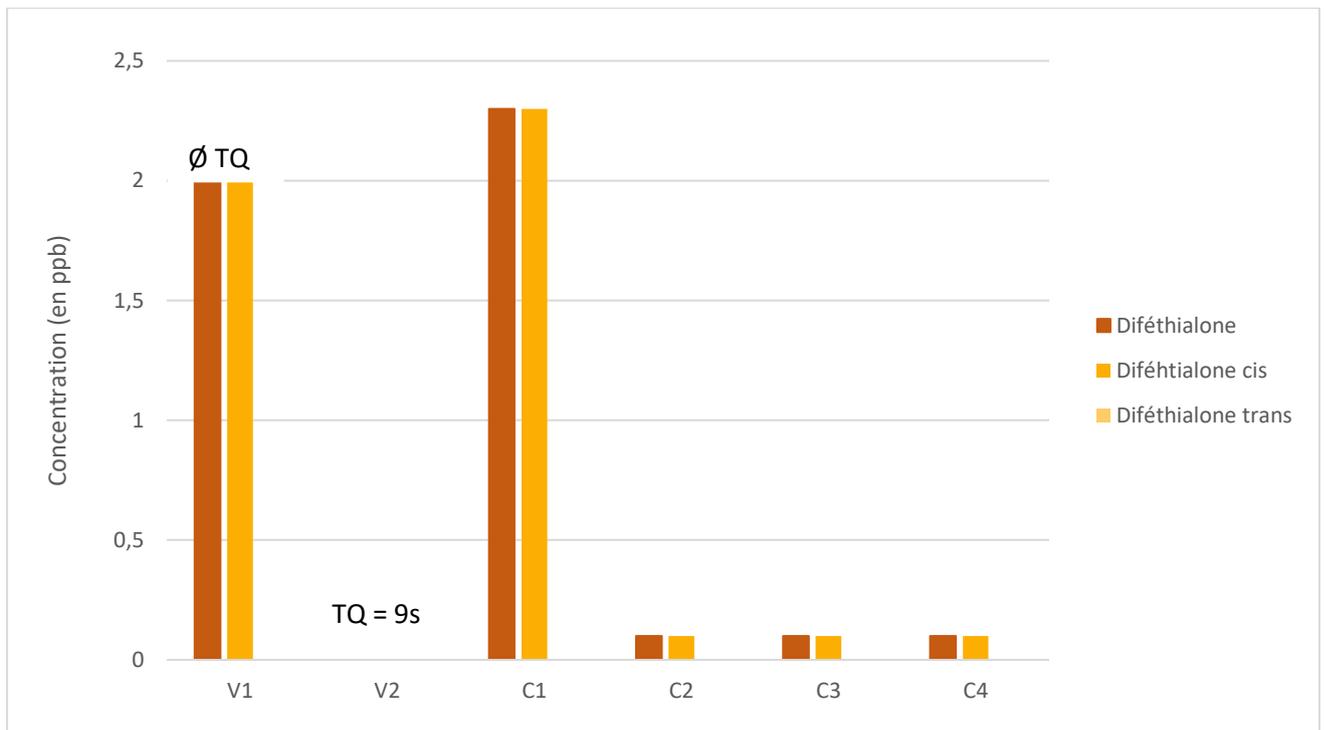


Figure 40: Résultat chien PIR-016

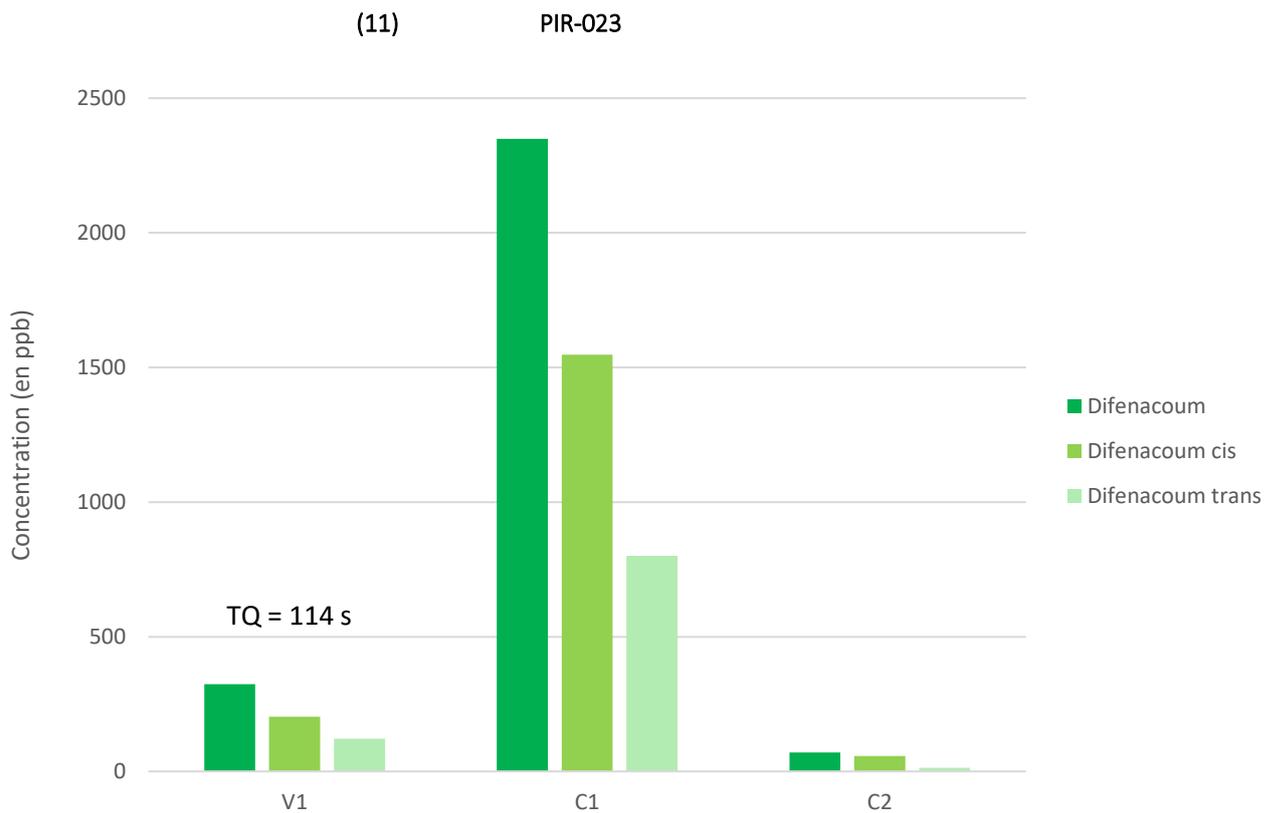


Figure 41: Résultat chien PIR-023

Le TQ est augmenté à V1, on détecte dans le plasma et dans les selles du difénacoum (Figure 41). Sa concentration dans le plasma et dans les selles diminue du cours du temps. L'isomère trans est presque totalement éliminé à la deuxième collecte de selle, contrairement à l'isomère cis.

(12) PIR-035

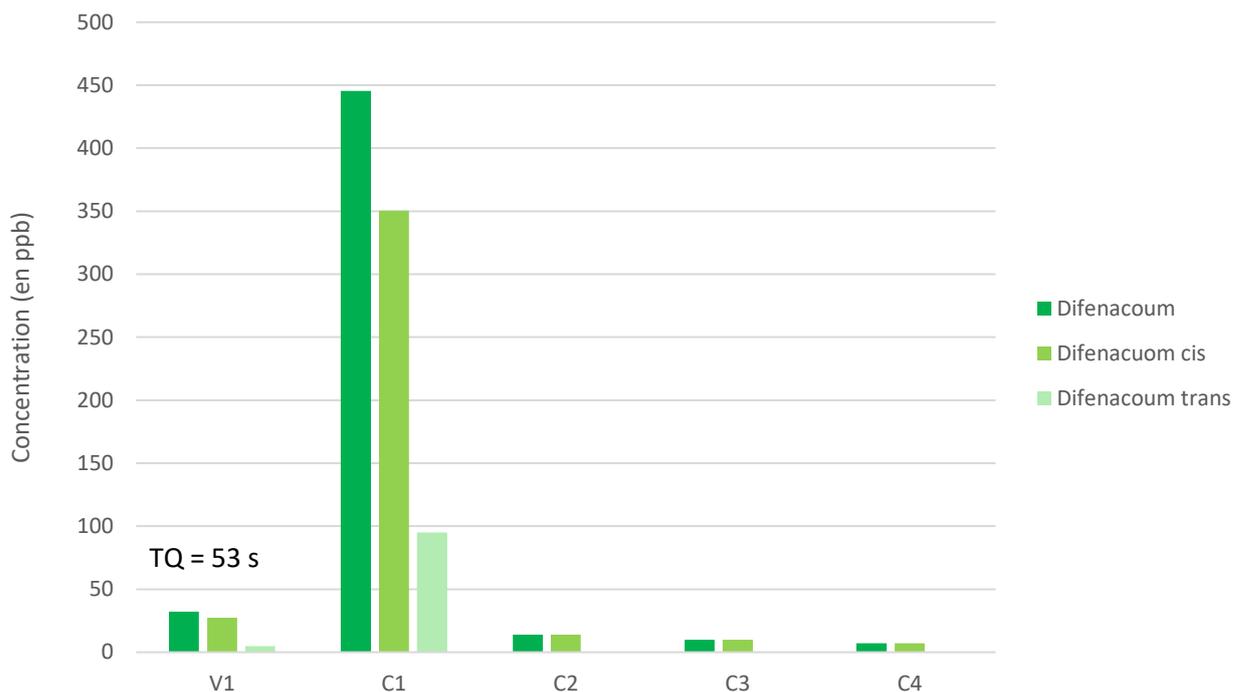


Figure 42: Résultat chien PIR-035

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1), on détecte du difénacoum dans le plasma et dans les selles jusqu'à la quatrième collecte, sa concentration diminue au cours du temps (Figure 42).

(13) PIR-041

Le TQ est augmenté lors de la visite d'inclusion (V1) (Figure 43). On détecte à la fois du difénacoum et de la bromadiolone dans le plasma et dans les selles. La proportion des deux AVK nous permet de suspecter une intoxication avec un produit contenant à la fois du difénacoum et de la bromadiolone. La concentration en difénacoum dans les selles diminue jusqu'à C4 et augmente à C5, et la concentration en bromadiolone diminue et augmente à C4. Pour le difénacoum c'est l'isomère cis qui persiste le plus longtemps dans les selles. Pour la bromadiolone c'est l'isomère trans.

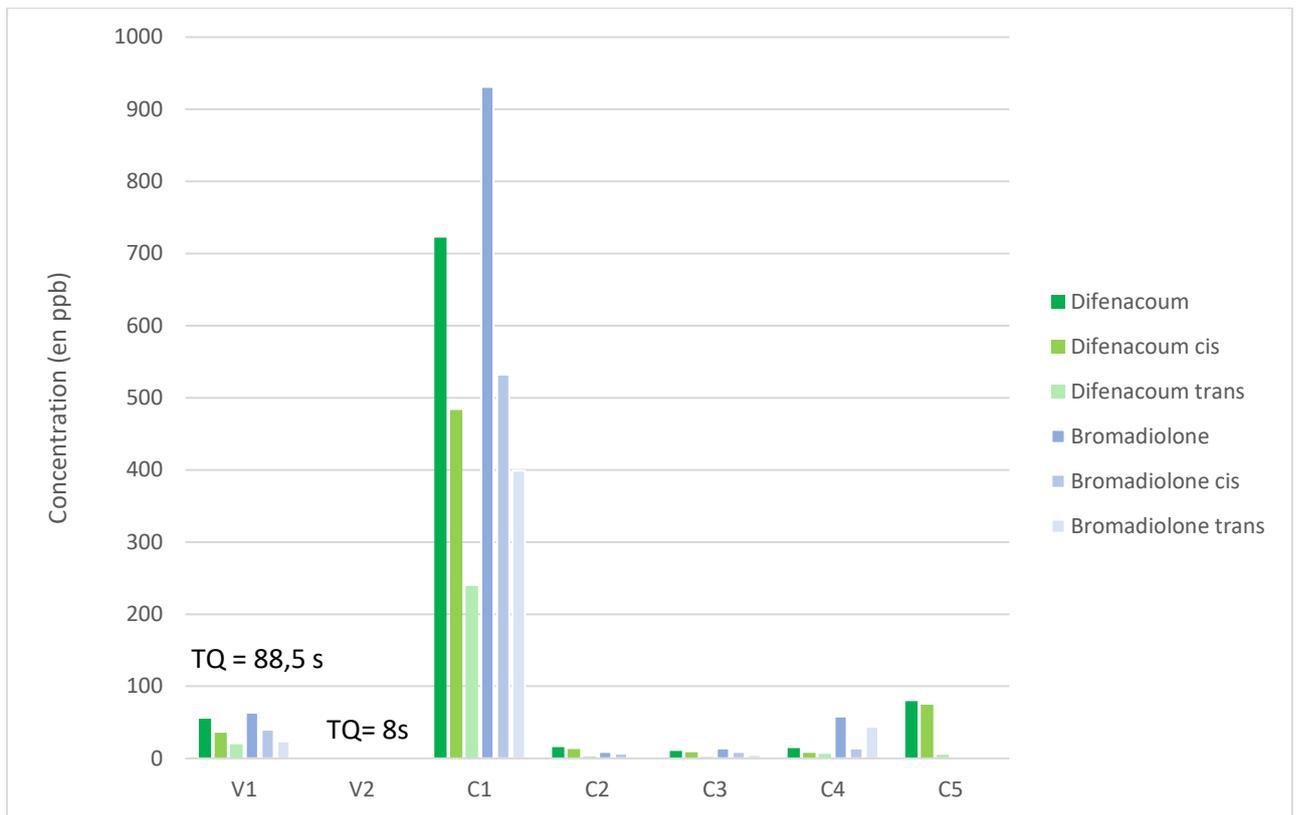


Figure 43: Résultat chien PIR-041

(14) PIR-047

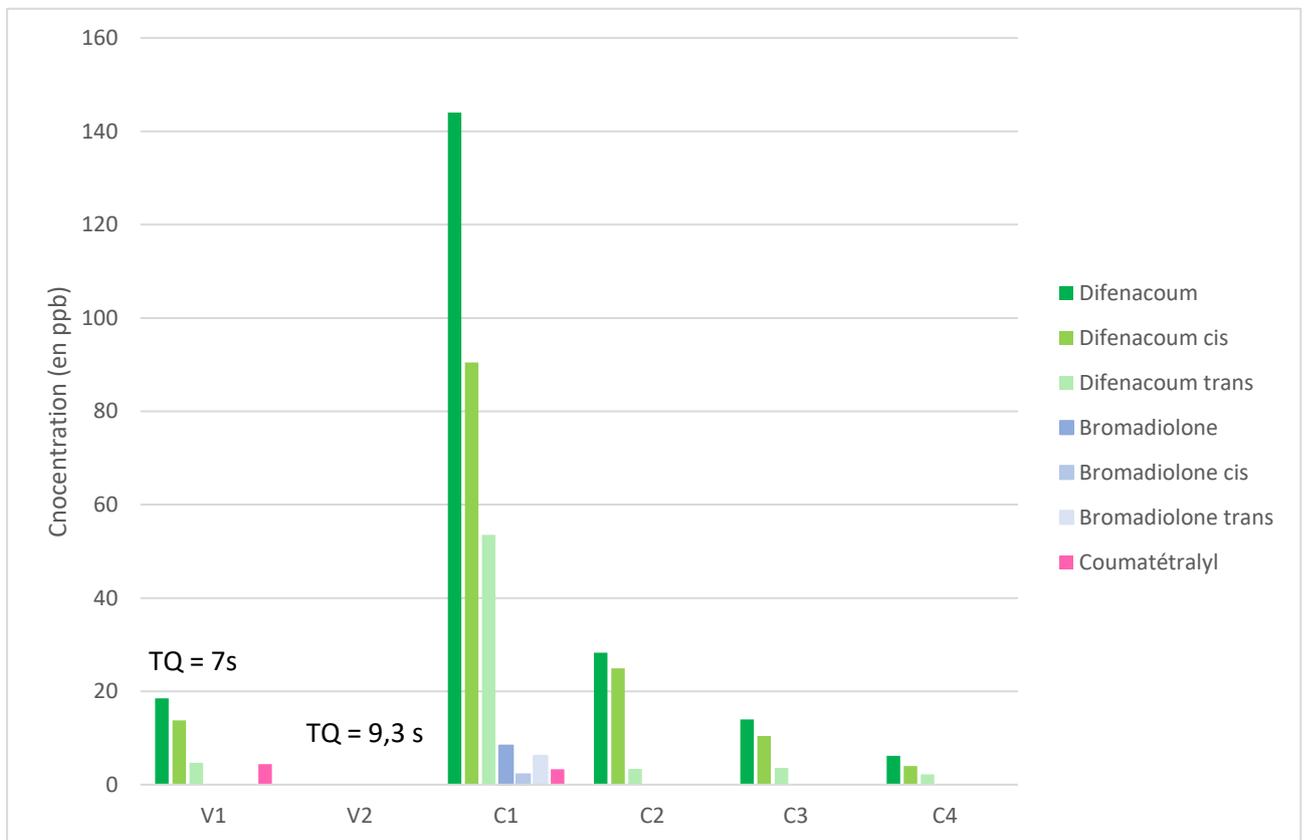


Figure 44: Résultat chien PIR-047

Le TQ est dans les valeurs usuelles lors de la visite d'inclusion (V1) mais on détecte dans le plasma du difénacoum et du coumatétralyl (Figure 44). Dans les selles, on note la présence de difénacoum, de coumatétralyl et de bromadiolone à C1. La concentration en difénacoum et bromadiolone diminue au cours du temps.

L'isomère cis du difénacoum est majoritairement présent dans les selles par rapport à l'isomère trans.

d) *Molécules incriminées*

(1) Molécules présentes dans le plasma

Le plasma de chaque chien inclus est analysé afin de détecter la présence d'AVK. Les raticides anticoagulants recherchés sont les suivants : coumafène, chlorophacinone, coumatétralyl, flocoumafén, bromadiolone, difénacoum, brodifacoum et diféthialone. Le seuil de détection est de 1 à 2 ppb pour un volume initial de plasma de 200 µL.

Parmi nos 21 cas, on détecte des AVK dans 13 plasmas. On exprime les résultats en pourcentage. Cela correspond au rapport du nombre de chien présentant la chlorophacinone, par exemple, dans le plasma sur le nombre total de chiens chez qui on détecte un anticoagulant. Ce calcul est réalisé pour chaque molécule. Les résultats sont regroupés dans le Tableau XVII ci-dessous. Certains chiens présentent simultanément plusieurs molécules, par exemple, le plasma du chien PIR-006 contient à la fois de la chlorophacinone, du difénacoum et du brodifacoum. Les chiens PIR-005 Arka, PIR-009, PIR-013, PIR-041 et PIR-047 présentent également plusieurs AVK dans leur plasma. Au total, chez 6 chiens sur 13 (46%), on détecte plusieurs molécules.

Tableau XVII: Molécules détectées dans le plasma

Molécule	1 ^{ère} génération		2 ^{de} génération				
	Chlorophacinone	Coumatétralyl	Difénacoum	Bromadiolone	Difénacoum / Bromadiolone	Diféthialone	Brodifacoum
Numéro du cas	PIR-001 C PIR-001 J PIR-006	PIR-010 PIR-013 PIR-014 PIR-047	PIR-005 Arka PIR-006 PIR-009 PIR-023 PIR-035 PIR-047	PIR-005 Arka PIR-009	PIR-041	PIR-016 PIR-013	PIR-006
Nombre de chien	3	4	6	2	1	2	1
Pourcentage de chien	23,1 %	30,8 %	46,1 %	15,4 %	7,7 %	15,4 %	7,7 %
	53,8 %		92,3 %				

Dans le plasma, 92,3% des molécules sont des AVK de seconde génération et 53,8% des AVK de première génération. Le pourcentage total est supérieur à 100% puisque plusieurs molécules peuvent être présentes dans un même plasma.

(2) Molécules présentes dans les fèces

Parmi nos 21 chiens, on détecte des AVK dans les selles de 14 chiens. Les résultats sont regroupés dans le Tableau XVIII. De même que pour le plasma, on retrouve plusieurs AVK dans les selles d'un chien pour 50% des cas (PIR-002, PIR-005 Arka, PIR-006, PIR-009, PIR-013, PIR-041, PIR-047).

Tableau XVIII: Molécules détectées dans les fèces

Molécule	1 ^{ère} génération		2 ^{nde} génération				
	Chlorophacinone	Coumatétralyl	Difénacoum	Bromadiolone	Difénacoum / Bromadiolone	Diféthialone	Brodifacoum
	PIR-001 C PIR-001 J PIR-006	PIR-010 PIR-013 PIR-014 PIR-047	PIR-002 PIR-005 Arka PIR-006 PIR-009 PIR-023 PIR-035 PIR-047	PIR-002 PIR-005 Arka PIR-006 PIR-009 PIR-047	PIR-041	PIR-016 PIR-013	PIR-002 PIR-006 PIR-009
Nombre de chien	3	4	7	4	1	2	3
Pourcentage de chien	21,4 %	28,6 %	50,0 %	35,8 %	7,1 %	14,3 %	21,4 %
	53,9 %		128,6 %				

Dans les fèces, 128,6 % des molécules sont des AVK de seconde génération et 53,9% sont des AVK de première génération. Le pourcentage total des molécules est également supérieur à 100% puisque plusieurs molécules peuvent être présentes pour un même chien.

e) Molécules disponibles à la vente

Le sondage a été réalisé dans 26 magasins dans les départements du Rhône et de l'Isère. Parmi les 26 points de vente, on dénombre 15 structures type « jardinerie » et 11 structures type « grande surface ». Ces magasins sont situés aussi bien en zone rurale qu'en zone urbaine et sont accessibles à tous (particuliers et professionnels). Les résultats sont représentés sur la Figure 45.

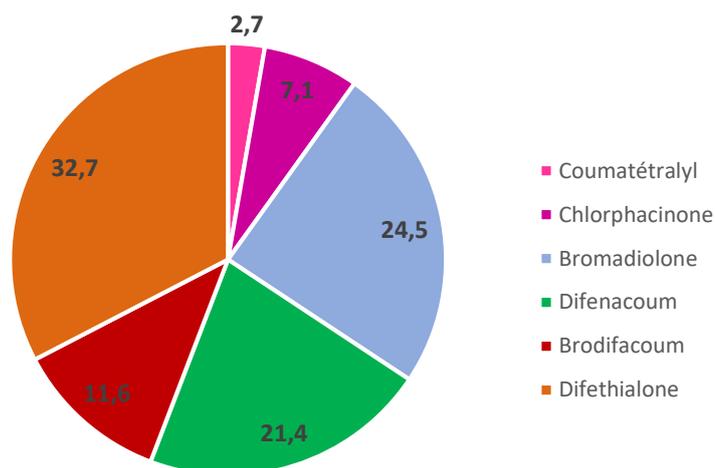


Figure 45: Molécules disponibles à la vente

Au total, 294 molécules ont été comptabilisées, les secondes générations sont très largement représentées avec 90,1 % contre 9,9% pour les premières générations. Parmi les 90,1% de secondes générations on dénombre : 24,5 % de bromadiolone, 21,4 % de difénacoum, 11,6% de brodifacoum et 32,7% de diféthialone.

3. Corrélation entre le TQ et la concentration en anticoagulant dans le plasma et les selles

a) Corrélation entre le TQ et la concentration en anticoagulant dans le plasma

Tout d'abord, on sélectionne les chiens pour lesquels on a une valeur de TQ et de concentration à la première visite (V1). On dénombre 12 chiens correspondant à ce critère.

On représente, sur un graphique (Figure 46), le temps de Quick en fonction de la concentration en anticoagulant. Il n'y a aucune corrélation linéaire entre les deux paramètres ($R^2=0,58$).

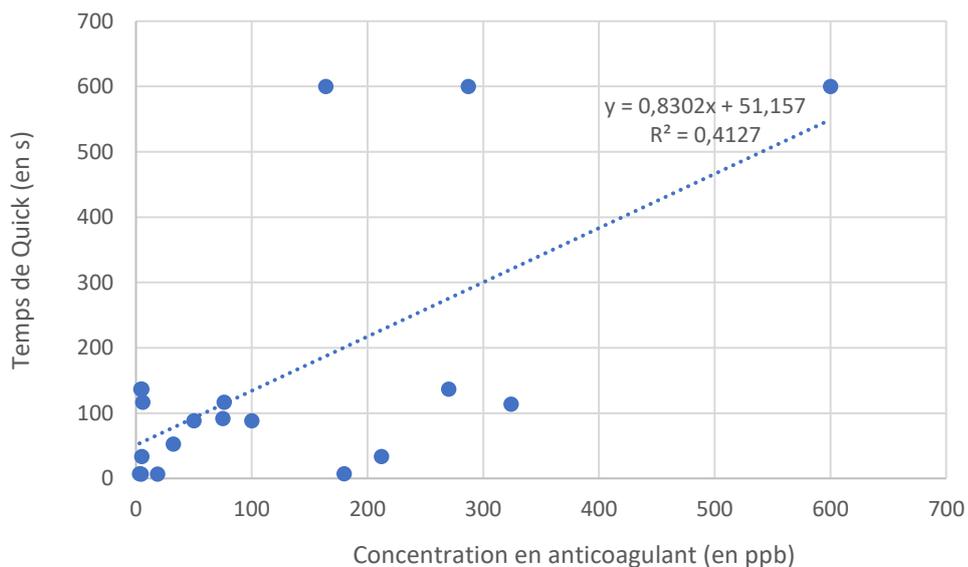


Figure 46: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans le plasma

Pour un même chien, et donc pour un même TQ, il est possible d’avoir plusieurs concentrations en AVK puisque plusieurs molécules peuvent être détectées dans le plasma. On suppose que le temps de Quick est modifié par l’anticoagulant présent en plus grande quantité dans le plasma. Pour les chiens présentant plusieurs concentrations en AVK on ne conserve que la plus grande, c’est-à-dire celle la plus susceptible de faire varier le TQ. On représente ceci sur un graphique (Figure 47).

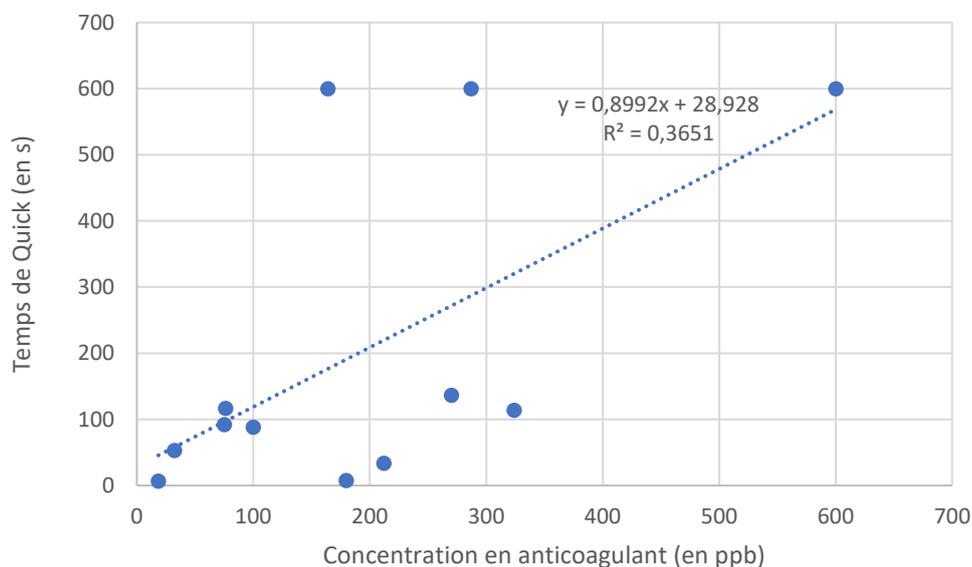


Figure 47: Evolution du TQ en fonction de la concentration en AVK dans le plasma après extrapolation

Après extrapolation, il n’y a pas de corrélation entre le TQ et la concentration en AVK dans le plasma ($R^2 = 0,365$).

4. Comparaison de la détection des AVK dans le plasma et dans les fèces

Concernant les chiens PIR-016, PIR-041 et PIR-047, on note que le dosage des AVK dans le plasma est positif à V1 (diféthialone pour PIR-016, difénacoum et bromadiolone pour PIR-041 et difénacoum et coumatétralyl pour PIR-047) alors qu'il est négatif à V2. On ne détecte plus les anticoagulants dans le plasma après 3 semaines pour ces trois chiens. A propos des selles, la diféthialone est détectable dans les fèces, pour PIR-016, au minimum jusqu'à C4, c'est-à-dire, 3 semaine après le début du traitement. Pour PIR-041, on détecte le difénacoum et la bromadiolone au minimum jusqu'à C3. Enfin, pour PIR-047, on détecte le difénacoum et le coumatétralyl au minimum jusqu'à C4 mais on détecte également de la bromadiolone lors de la première collecte que l'on ne retrouve pas dans le plasma lors de la visite d'inclusion. Les anticoagulants ne sont rapidement plus décelables dans le plasma, alors qu'ils sont toujours présents dans les selles.

De même, pour PIR-002, le dosage d'anticoagulant est négatif à V1 et V2 alors que du brodifacoum et du difénacoum sont présents dans les selles, au minimum, lors des trois premières collectes.

Enfin, pour le chien PIR-006, trois anticoagulants sont présents dans le plasma à V1 alors que quatre anticoagulants sont présents dans les selles à C1.

Concernant les chiens recrutés pour notre étude, il semble que les anticoagulants soient décelables sur un temps très court dans le plasma, voire non détectables, alors qu'ils sont perceptibles dans les selles et ce, sur un intervalle de temps plus important.

Le chien PIR-047 présente, dans le plasma et dans les selles, à la fois une molécule de première génération, le coumatétralyl, et une molécule de seconde génération, le difénacoum. Le coumatétralyl est présent à C1 et C2 mais n'est plus détectable à partir de C3, contrairement au difénacoum qui est décelable jusqu'à C4. Ceci illustre que les molécules de secondes générations semblent persister plus longtemps dans les selles que les premières générations.

Parmi les 14 chiens intoxiqués, 10 chiens présentent des molécules de seconde génération dans leurs fèces. Elles sont détectables jusqu'à C3 pour 3 chiens sur 10 et jusqu'à C4 pour 6 chiens sur 10, sachant que nous n'avons pas, à notre disposition, les collectes suivantes. Il nous est donc impossible de savoir si les molécules sont présentes au-delà de C3 et C4. Enfin, pour 1 chien sur 10, les AVK de seconde génération sont détectables jusqu'à C5.

Au sujet des chiens recrutés pour notre étude, il semble que les molécules de seconde génération persistent plus longtemps dans les fèces que les molécules de première génération.

5. Etude des diastéréoisomères

Pour chaque molécule de seconde génération nous avons dosé la concentration totale du composé ainsi que la concentration de chacun des isomères. Nous avons ensuite établi le rapport de la concentration de la forme cis ou trans par rapport à la concentration totale (appelé par la suite « pourcentage »).

Dans cette partie, l'analyse des résultats se fera molécule par molécule et non chien par chien. Pour chaque AVK de seconde génération, on compare le ratio initial de forme cis et trans contenu dans le raticide et le ratio de forme cis et trans dans chaque prélèvement sanguin ou collecte de selle dont nous disposons. Ceci nous permet de suivre l'élimination de chaque isomère.

a) *Etude du difénacoum*

Le tableau ci-dessous (Tableau XIX) répertorie les ratios en forme cis et trans dans le sang et les fèces chez les chiens pour lesquels on a détecté du difénacoum. Dans le produit commercial on retrouve plus de 55% de forme cis et entre 20 et 45% de forme trans. Le ratio du produit commercial est inscrit en rouge dans le tableau.

Concernant le ratio initial dans le sang ou dans les selles, il semble être cohérent avec le ratio de la préparation commerciale.

Tableau XIX: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués au difénacoum

% cis ou trans	CIS (>55%)							TRANS (20-45%)						
	V1	V2	C1	C2	C3	C4	C5	V1	V2	C1	C2	C3	C4	C5
PIR-002				78,6	74,9	80,6				21,4	25,1	19,4		
PIR-009	61,3	73,9	65,4	77,4	91,5	91,2	80,6	38,7	26,1	34,6	22,6	8,5		
PIR-006	82,8	74,5	92,4	100	100		84,1	17,2	25,5	7,6	0	0		
PIR-023	62,7		65,9	81,4				37,3		34,1	18,6			
PIR-005 Arka	76,2	100		90	100	85,9		23,8	0		10	0	14,1	
PIR-041	64,6		66,9	82,1	81,6	54,2	93,8	35,4		33,1	17,9	18,4	45,8	6,2
PIR-047	74,6		62,8	88	74,3			25,4		37,2	12	25,7		
PIR-035	85		78,7					15		21,3				
Moyenne	72,5	82,8	73	84,8	88,0			27,5	17,2	27,0	15,2	12,0		
SEM	3,7	8,6	4,1	3,2	4,4			3,7	8,6	4,1	3,2	4,4		

Nous calculons, pour chaque collecte (V1, V2, C1, C2, C3), la moyenne du pourcentage de forme cis et trans ainsi que l'erreur standard de la moyenne (SEM) associée. Ceci n'est pas réalisé pour C4 et C5 puisque nous disposons de peu de valeurs. Les résultats sont représentés dans l'histogramme suivant (Figure 50).

Dans le sang, on note une augmentation significative de la forme cis et une diminution de la forme trans entre la visite V1 et V2. Il y a un enrichissement du sang en forme cis.

Dans les selles, on note également une augmentation significative de la forme cis et une diminution significative de la forme trans entre la collecte C1 et C2. Il n'y a pas de différence significative entre C2 et C3. Il semble se dégager la même tendance que dans le plasma : le ratio de forme cis et trans dans les selles s'enrichit en forme cis.

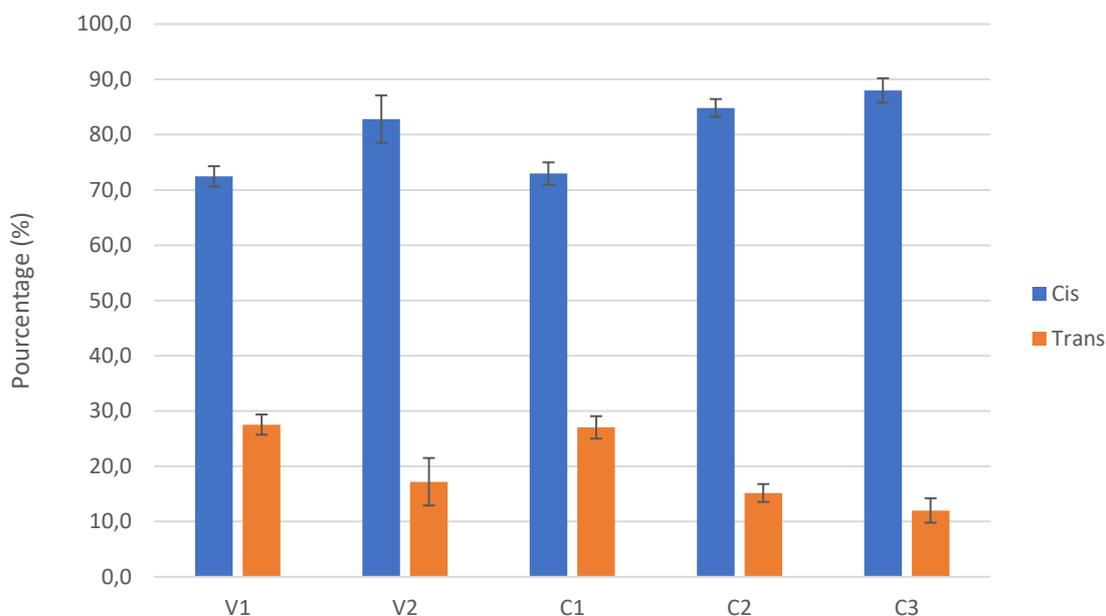


Figure 50: Moyenne du pourcentage des formes cis et trans du difénacoum

b) Etude de la bromadiolone

Le tableau ci-dessous (Tableau XX) répertorie les ratios en forme cis et trans dans le sang et les fèces chez les chiens pour lesquels on a détecté de la bromadiolone. Dans le produit commercial on retrouve plus de 70 % de forme trans et moins de 30% de forme cis. Chez les chiens PIR-009 et PIR-041 on note une incohérence puisque le ratio à VI et C1 est très différent du ratio du produit commercial (52% de cis et 48 % de trans pour PIR-009 ; 62,9% de cis et 37,1% de trans pour PIR-041). Le ratio à C1 du chien PIR-047 correspond au ratio de la forme commerciale avec 26,2% de forme cis et 73,8 % de forme trans.

Au vu du faible nombre de données concernant la bromadiolone, il est difficile de suivre l'évolution du ratio de forme cis et trans dans les selles, mais il semblerait que le ratio s'enrichisse en forme trans.

Tableau XX: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués à la bromadiolone

% cis ou trans	CIS (<30%)						TRANS (>70 %)					
	V1	C1	C2	C3	C4	C5	V1	C1	C2	C3	C4	C5
PIR-009	52	47,9	24,6				48	52,1	75,4			
PIR-041	62,9	57,1	77,8	64,3	24,1		37,1	42,9	22,2	35,7	75,9	
PIR-047		26,2						73,8				
Moyenne	57,5	43,7	51,2				42,6	56,3	48,8			

c) Etude du brodifacoum

Le tableau (Tableau XXI) ci-dessous répertorie les ratios en forme cis et trans dans le sang et les fèces chez les chiens pour lesquels on a détecté du brodifacoum. Dans le produit commercial on retrouve entre 20 et 50% de forme cis et entre 20 à 80% de forme trans. Concernant les chiens PIR-002 et PIR-006, le ratio à C1 est enrichi en forme cis par rapport à

la forme commerciale. Pour le chien PIR-009, le ratio est cohérent avec le ratio du produit commercial. Au vu du faible nombre de données pour le brodifacoum on peut simplement émettre des tendances : dans notre étude il semblerait que le ratio s'enrichisse en forme cis.

Tableau XXI: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués au brodifacoum

% cis ou trans	CIS (20-50%)						TRANS (20-80%)					
	V1	C1	C2	C3	C4	C5	V1	C1	C2	C3	C4	C5
PIR-002		75,6	72,2	74,8				24,4	27,8	25,2		
PIR-009		51,7						48,3				
PIR-006	66,7	67	77,6				33,3	33	22,5			
Moyenne		64,8	74,9					35,2	25,1			

d) Etude de la diféthialone

Le tableau (Tableau XXII) ci-dessous répertorie les ratios en forme cis et trans dans le sang et les fèces chez les chiens pour lesquels on a détecté de la diféthialone. Dans le produit commercial plus de 70% de forme cis et moins de 30% de forme trans.

Tableau XXII: Ratio de forme cis et trans chez les chiens intoxiqués à la diféthialone

% cis ou trans	CIS (>> 70%)						TRANS (<< 30%)					
	V1	C1	C2	C3	C4	C5	V1	C1	C2	C3	C4	C5
PIR-013	100	98,3	100				0	1,7	0			
PIR-016	100	100					0	0				
Moyenne	100	99,2					0	0,85				

Seule la forme cis est présente dans le plasma et dans les selles, ceci est en accord avec le ratio de la forme commerciale dans laquelle la forme cis est très fortement majoritaire.

6. Analyse des concentrations de facteur de coagulation chez nos chiens intoxiqués

Les facteurs de coagulation dosés correspondent aux facteurs carboxylés (facteur II, VII, IX et X). Lors d'une intoxication aux AVK, la γ -carboxylation des facteurs n'est pas réalisée, de ce fait, la concentration en facteurs de coagulation carboxylés dans l'organisme diminue.

Il n'existe pas, dans la littérature, de valeur usuelle de concentration des facteurs de coagulation pour l'espèce canine. Nous avons donc dosé les facteurs de coagulation II, VII, IX et X chez 5 chiens non intoxiqués aux AVK, à plusieurs reprises. Ainsi, nous avons défini des valeurs des concentrations de ces facteurs de coagulation (Tableau XXIII).

Tableau XXIII: Valeurs des concentrations de facteur de coagulation chez des chiens témoins

Facteur de coagulation	Concentration (DO à 405 nm)
F II	0,506 +/- 0,037
F VII	0,297 +/- 0,024
F IX	0,143 +/-0,046
F X	1,071 +/-0,089

Le dosage des facteurs de coagulation est réalisé à chaque visite (V1 et V2), lorsque l'on dispose d'une quantité suffisante de plasma.

Les résultats sont présentés dans le Tableau XXIV ci-dessous. Les chiens représentés en vert correspondent aux chiens non intoxiqués, comme définis précédemment (PIR-003, PIR-004, PIR-005 Arvie, PIR-012, PIR-024 G, PIR-024 M). Les résultats sont exprimés en pourcentage par rapport à la concentration du facteur témoins. Ainsi, des pourcentages faibles traduisent un épuisement des facteurs γ -carboxylés dans le sang et donc une probable intoxications aux AVK.

Tableau XXIV: Résultats des dosages des facteurs II, VII, IX et X

	Visite	Facteur VII	Facteur VII en % par rapport aux témoins	Facteur IX	Facteur IX en % par rapport aux témoins	Facteur X	Facteur X en % par rapport aux témoins	Facteur II	Facteur II en % par rapport aux témoins
PIR-001 C	V1	0,0067	2	0,0231	16	0,0455	4	0,2424	48
PIR- 001 J	V1	0,0071	2	0,0142	10	0,0106	1	0,2215	44
PIR-002	V1	0,4935	166	0,0119	8	0,6857	64	0,5233	103
	V2	0,0143	5	0,0989	69	0,3700	35	0,3435	68
PIR-003	V2	0,2467	83	0,1962	137	1,2769	119	0,5695	113
PIR-004	V1	0,3517	93	0,2521	112	1,2412	72	0,5127	97
PIR-005 ARKA	V1	0,5118	135	0,2524	112	-	-	0,4988	95
	V2	-	-	0,2205	98	-	-	0,4992	95
PIR-005 ARVIE	V1	-	-	0,2186	97	-	-	0,6095	116
	V2	-	-	0,2369	105	-	-	0,6751	128
PIR- 006	V1	0,0068	2	0,0173	12	0,0275	3	0,2382	47
PIR- 009	V1	0,0092	3	0,0191	13	0,0408	4	0,2485	49
	V2	0,4698	158	0,2517	176	1,5305	143	0,6825	135
PIR-010	V1	0,0107	4	0,0118	8	0,0108	1	0,2218	44
PIR-012	V1	0,2481	84	0,1596	111	0,7671	72	0,4403	87
	V2	0,2990	101	0,1403	98	0,7693	72	0,4423	87
PIR-013	V1	0,0078	3	0,0195	14	0,0804	8	0,2313	46
	V2	0,3136	106	0,2213	155	1,1076	103	0,5326	105
PIR-014	V1	0,0093	2	0,0112	5	0,0138	1	0,2094	40
	V2	0,3547	94	0,1914	85	-	-	-	-
PIR-023	V1	0,0087	2	0,0182	8	0,0213	1	0,2566	49
PPIR-024 M	V1	0,4585	121	0,3279	146	-	-	-	-
PIR-024 G	V1	0,2331	62	0,1659	74	-	-	0,4854	92

a) *Analyse du facteur VII*

On dénombre 10 chiens intoxiqués pour lesquels le facteur VII a été dosé lors de la visite d'inclusion (V1). Parmi ces 10 chiens, 8 présentent un pourcentage en facteur VII compris entre 2 et 5 % et 2 chiens présentent un pourcentage supérieur à 100%. Ceci concerne le chien PIR-002 pour lequel le TQ est augmenté à V1 mais le dosage d'anticoagulant négatif, et le chien PIR-005 pour lequel le TQ est normal et le dosage d'anticoagulant est négatif. Pour les 8 chiens, dont le pourcentage est compris entre 2 et 5%, le TQ est augmenté et le dosage d'anticoagulant dans le plasma est positif à V1.

Parmi les 8 chiens, le dosage du facteur VII a été réalisé à V2 pour 3 chiens et avoisine les 100% (158 % pour PIR-009, 106 % pour PIR-013, 94% pour PIR-014). Le TQ est normal et le dosage d'anticoagulant dans le plasma positif pour ces chiens à V2. Pour les 5 chiens restants, nous ne disposons pas des valeurs à V2.

On observe une forte diminution de la concentration du facteur VII pour 8 chiens sur 10 (80%) lors d'intoxication aux AVK puis une normalisation de la concentration du facteur VII suite à l'administration de vitamine K1.

b) *Analyse du facteur IX*

On dénombre 10 chiens intoxiqués pour lesquels le facteur IX a été dosé lors de la visite d'inclusion (V1). Parmi ces 10 chiens, 9 présentent un pourcentage en facteur IX compris entre 5 et 16%, le TQ et le dosage d'anticoagulant dans le plasma est positif à V1. Un seul chien présente un pourcentage en facteur IX égale à 112, il s'agit du chien PIR-005 Arka. Pour ce chien, le TQ est dans les valeurs usuelles et le dosage d'anticoagulant négatif pour la première visite.

Parmi les 9 chiens, le dosage du facteur IX à V2 a été réalisé pour 4 chiens, le pourcentage de facteur IX augmente et oscille entre 69 et 176 % (69 % pour PIR-002, 176% pour PIR-009, 155% pour PIR-013 et 85% pour PIR-014). Le taux de facteur IX à V2 se normalise. Le TQ se normalise à V2 et le dosage d'anticoagulant dans le plasma est positif à l'exception du chien PIR-002.

On observe une diminution de la concentration du facteur IX pour 9 chiens sur 10 (90%) lors d'intoxications aux AVK puis une normalisation de la concentration du facteur IX suite à l'administration de vitamine K1.

c) *Analyse du facteur X*

On dénombre 9 chiens intoxiqués pour lesquels le facteur X a été dosé lors de la première visite (V1). Parmi ces 9 chiens, 8 présentent un pourcentage de facteur X compris entre 1 et 8 %. Pour ces chiens, le TQ est augmenté et le dosage d'anticoagulant dans le plasma

positif à V1. Un chien sur 9 (PIR-002) présente un pourcentage de facteur X égal à 64 %, Le TQ est augmenté à V1 mais le dosage d'anticoagulant dans le plasma est négatif.

Parmi ces 8 chiens, le facteur X a été dosé à la deuxième visite pour 2 chiens et est supérieur à 100 % (143 pour PIR-009 et 103 pour PIR-013). A V2, le TQ est normalisé et des anticoagulants sont toujours détectables dans le plasma.

On observe une forte diminution de la concentration du facteur X pour 8 chiens sur 9 (89 %) lors d'intoxications aux AVK puis une normalisation de la concentration du facteur X suite à l'administration de vitamine K1.

d) Analyse du facteur II

On dénombre 10 chiens pour lesquels le facteur II a été dosé lors de la visite d'inclusion (V1). Parmi ces 10 chiens, 8 présentent un pourcentage de facteur II compris entre 40 et 50 %. Le TQ est augmenté et le dosage des anticoagulants dans le plasma est positif pour ces chiens. Pour 2 chiens sur 10, le pourcentage de facteur II avoisine les 100 % (103 pour PIR-002 et 95 pour PIR-005 Arka). Le TQ est dans les valeurs usuelles à V1 pour PIR-005 Arka et le plasma ne contient pas d'anticoagulant à V1. Pour PIR-002, Le TQ est augmenté à V1, mais le plasma ne contient pas d'anticoagulant.

Lors de la seconde visite les anticoagulants sont dosés pour deux chiens et se normalisent (135 % pour PIR-009 et 105% pour PIR-013). Le TQ est alors normal mais des anticoagulants sont tous détectés dans le plasma.

On observe une diminution modérée de la concentration en facteur II pour 8 chiens sur 10 (80%) au cours d'une intoxication aux AVK puis une normalisation de la concentration suite à l'administration de vitamine K1.

L'analyse des facteurs de coagulation met en évidence la consommation plus rapide de certains facteurs de coagulation vitamine-K dépendants lors d'ingestion de raticide. En effet, lors de la première visite, les taux de facteurs VII et X sont très bas, voire quasiment nul alors que les facteurs IX et II sont présents en quantité modérée. La Figure 51 illustre ce phénomène. A l'exception des chiens PIR-002 et PIR-005 Arka, il est possible de visualiser la quantité très faible de facteurs VII et X.

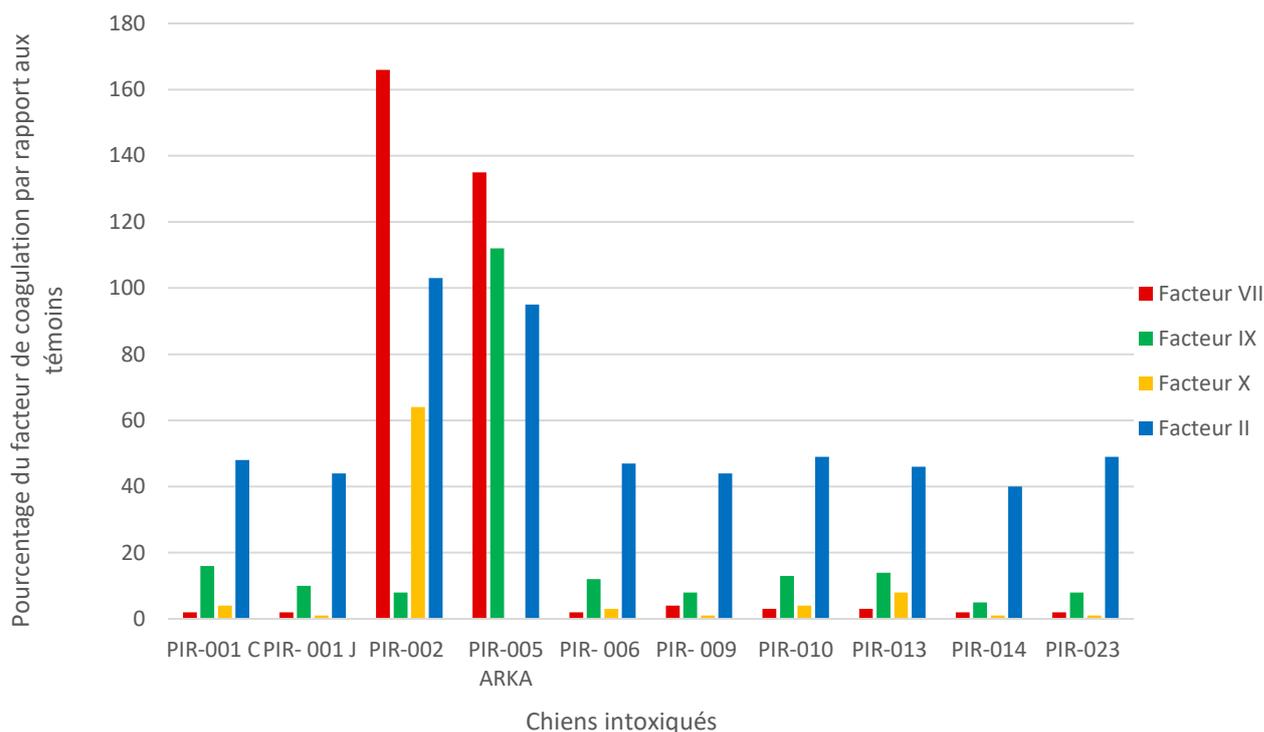


Figure 51: Pourcentage de facteurs de coagulation à VI

Le dosage des facteurs de coagulation vitamine-K dépendants montre, chez nos chiens, une consommation rapide des facteurs VII et X, puis du facteur IX et enfin du facteur II. Ceci doit être corrélé avec les temps de demi-vie.

D. Discussion

1. Population de chien recrutée

a) Taille de l'effectif recruté

La population recrutée est composée de 21 chiens dont 14 s'avèrent être intoxiqués par des raticides anticoagulants. L'effectif total de la population est réduit et ne permet pas l'analyse statistique des résultats, seules des tendances peuvent être données. Une étude à plus grande échelle devra être réalisée pour confirmer les résultats obtenus dans ce travail de thèse.

La taille réduite de l'effectif est imputable, tout d'abord, à la difficulté de recruter des vétérinaires désirant participer à l'étude. En effet, cela prend du temps au vétérinaire de s'informer sur les modalités du protocole de l'étude. De plus, il doit également prendre le temps, lors de la consultation, d'expliquer le contexte de l'étude au client, pourquoi il serait intéressant qu'il y participe, l'implication que cela nécessite, etc. Il est également difficile de recruter des clients. Bien que tous les frais, qui outrepassent les coûts habituels liés au diagnostic et au traitement d'une intoxication aux AVK, soient pris en charge par le laboratoire de l'école, il faut tout de même que le client soit motivé. En effet, il doit, toutes les semaines, prélever les selles de l'animal pour les envoyer. De plus il doit être extrêmement rigoureux quant aux délais

de visites et de collecte imposés par l'étude. Ces conditions peuvent décourager certains propriétaires. Enfin, une fois que le vétérinaire et le propriétaire se sont engagés, le chien doit respecter les critères d'inclusions nécessaires pour entrer dans l'étude. Ces trois points conditionnent l'inclusion d'un animal dans l'étude et contribuent à la taille réduite de l'effectif.

b) Echantillons récoltés au cours de l'étude

Une fois l'animal inclus dans l'étude, nous nous attendons à recevoir 8 prélèvements pour chaque cas (V1, V2, V3, C1, C2, C3, C4 et C5). Assurément, la totalité des prélèvements n'a pas été envoyée par les propriétaires. Tous les prélèvements ont été reçus pour la première visite et la première collecte. Les chiffres sont moins satisfaisants pour les autres échantillons.

A propos des prélèvements sanguins envoyés à l'occasion des rendez-vous chez le vétérinaire, 100% des échantillons prélevés à V1 ont été envoyés contre 57% à V2. Tous les prélèvements sont, bien évidemment, réalisés et envoyés à V1 mais si le vétérinaire ou le propriétaire estiment que trois semaines de traitement suffisent, alors la deuxième visite n'est pas réalisée et les prélèvements ne sont pas effectués. Pour certains chiens, le TQ à la deuxième visite a été réalisé par le vétérinaire dans sa structure. Nous n'avons donc pas de dosage des facteurs de coagulation ou de l'AVK incriminé. Aucun chien n'a été présenté en consultation pour la troisième visite puisque que tous les TQ réalisés à V2 se sont avérés normaux. Aucune visite supplémentaire, non nécessaire à l'animal, n'est réalisée puisqu'elle engendrerait un coût supplémentaire au propriétaire. Pour rappel le prix de la consultation n'est pas financé par l'étude.

En ce qui concerne les collectes de fèces, aucun frais n'est à la charge du propriétaire cependant toutes les collectes de selles ne sont pas réalisées. La totalité des collectes C1 sont envoyées, 90% pour C2, 57% pour C3, 33% pour C4 et 9,5% pour C5. Les propriétaires se lassent et envoient de moins en moins de colis au fil du temps. Les collectes C4 et C5 sont réalisées après la seconde visite chez le vétérinaire, si celui-ci confirme que le chien est hors danger, il peut être difficile de faire comprendre au propriétaire l'intérêt d'envoyer les dernières collectes de selles.

En définitive, il est difficile de suivre correctement la cinétique de ces intoxications puisque nous avons peu de patients inclus et nous ne possédons pas les mêmes échantillons pour chaque chien.

2. Les molécules impliquées dans les intoxications

L'analyse des 21 chiens donne une tendance des molécules les plus fréquemment impliquées dans les intoxications aux AVK. Dans le plasma, on dénombre 92,3% de seconde génération contre 53,8 % de première génération. Dans les selles, on dénombre 128,6% de seconde génération contre 53,9% de première génération. Les secondes générations sont majoritairement impliquées.

Ceci est à mettre en lien avec l'importance de la résistance des rongeurs aux molécules de première génération (100) (101). De nombreuses résistances ont été répertoriées autour des grandes métropoles françaises d'après le RRAC (Resistance Rodent Action Commitee). Ceci implique l'utilisation massive de raticide de seconde génération.

D'après notre sondage effectué dans 26 magasins et répertoriant 294 produits, 90,1% des produits disposés en rayon contiennent des molécules de seconde génération. Les magasins étudiés correspondent à des grandes surfaces ou jardineries localisées en milieu rural ou urbain. L'accès à ces points de vente n'est pas réglementé, ce sondage concerne donc des produits accessibles autant à des professionnels qu'aux particuliers. Les produits uniquement accessibles aux professionnels ne sont pas comptabilisés dans ce sondage. On peut supposer que les professionnels utilisent majoritairement des molécules de seconde génération. Le ratio 90,1% / 9,9% correspondrait donc au ratio le plus riche en première génération.

Entre 2015 et 2017, le CNITV a référencé 46 444 dossiers dont 3968 (8,5%) concernent les raticides anticoagulants. Parmi ces dossiers, l'AVK n'est pas identifié dans 21,5 % des cas. Les secondes générations sont majoritairement représentées avec 30,7% de difénacoum, 18,9 % de diféthialone, 16,6 % de bromadiolone et 10,3 % de brodifacoum. Les premières générations sont minoritaires avec 3,4 % de chlorophacinone et 2,6 % de coumatétralyl.

En 2008, à Philadelphie, PACHTINGER et al. (81) étudient 151 chiens intoxiqués aux raticides, la molécule incriminée est déterminée pour 90 chiens (60%), le brodifacoum est la molécule la plus impliquée (57,7%). En 2013, en Pennsylvanie, WADDELL et al. (77) répertorient 123 cas d'intoxications aux AVK. Ils détectent au moins un anticoagulant chez 75 chiens (61%), la molécule la plus fréquemment incriminée est le brodifacoum (80%) suivie par la diphacinone (18,7%) et la chlorophacinone (2,7%). On note, dans ces deux études, une prédominance des secondes générations et plus particulièrement du brodifacoum. Ce composé est très largement utilisé aux Etats-Unis (102).

En définitive, la prédominance des dernières générations dans nos cas d'intoxications est compatible avec la proportion de secondes générations disponibles à la vente, les statistiques du CNITV et les études rétrospectives réalisées sur les chiens intoxiqués aux raticides anticoagulants.

La nouvelle réglementation, mise en vigueur au 1^{er} mars 2018, pourrait accentuer cette prédominance sur le marché des molécules de dernière génération. En juillet 2016, la Commission Européenne demande le classement des substances anticoagulantes comme toxiques pour la reproduction (103). A l'origine, ces effets toxiques ont été démontrés chez l'Homme. Des études ont montré l'apparition d'embryopathie appelée « syndrome fœtal de la warfarine » caractérisée par une chondrodysplasie et hypoplasie nasale, chez les femmes traitées à la warfarine pendant le premier trimestre de la grossesse (104) (105). Des malformations du système nerveux central peuvent également survenir lors d'exposition pendant les deux derniers trimestres (106). Du fait de cette toxicité chez la femme, il a été décidé de classer toutes les molécules anticoagulantes, y compris celle utilisées uniquement en

tant que raticide, comme toxique pour la reproduction. Suite à cette nouvelle classification, les produits dont la concentration est supérieure à 30 ppm seront retirés du marché grand public et porteront la mention « Peut nuire au fœtus » et « Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée ». Les produits dont la concentration est inférieure à 30 ppm porteront la mention « Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée » (107). Cette classification s'appuie sur une extrapolation infondée. En effet, les effets toxiques sur la reproduction ont été observés avec la warfarine sur des patientes recevant une dose constante quotidiennement. Or, l'exposition des Hommes aux raticides est occasionnelle (108). De plus, cette extrapolation repose sur l'hypothèse que les pharmacocinétiques des raticides soient similaires à celle de la warfarine et en particulier en termes de coefficient d'extraction hépatique et corollairement en termes d'exposition au fœtus. Les manipulateurs portent fréquemment des gants et disposent les appâts dans des boîtiers sécurisés. De plus, les raticides contiennent une substance amérissante incitant l'éventuel consommateur à recracher immédiatement le contenu. Le risque d'intoxication et donc de toxicité sur la reproduction est très faible dans le cadre de l'utilisation conventionnelle de raticides anticoagulants.

Avec une concentration inférieure à 30 ppm, les molécules de seconde génération seront majoritairement actives, bien qu'il a été montré qu'à cette concentration-là de difénacoum, certaines populations de rats seraient résistantes (109). Les premières générations, elles, risquent d'être ingérées à une dose sub-létale ne permettant pas l'élimination des rongeurs. Cette classe de molécule deviendra alors obsolète (15) (110).

Aujourd'hui, la majorité des molécules impliquées dans les intoxications sont des molécules de seconde génération dont la toxicité est importante. Du fait de la nouvelle classification, les composés de première génération tendent à disparaître. Il est donc primordial de s'orienter vers une troisième classe de molécule ayant une efficacité tout aussi importante que les secondes générations mais présentant moins d'écotoxicité que ses prédécesseurs.

BILAN

Une grande majorité des molécules impliquées dans notre étude appartiennent aux anticoagulants de seconde génération. Ceci s'explique par la prédominance sur le marché, aujourd'hui, de cette classe de molécule du fait de leur efficacité sur les populations de rongeurs résistantes aux premières générations.

Une nouvelle réglementation Européenne, concernant les raticides disponibles sur le marché, est mise en vigueur à partir du 1^{er} mars 2018. Elle vise à limiter les risques toxiques des composés en diminuant leur concentration au sein des produits. Cette réglementation risque de faire disparaître les molécules de première génération et augmenter la proportion de seconde génération. Il sera alors primordial de se concentrer sur la conception d'une troisième génération de molécule dont l'écotoxicité serait réduite.

3. Métabolisme des AVK

a) *Corrélation entre le TQ et la concentration en AVK dans le plasma et dans les selles*

L'analyse du TQ et de la concentration en anticoagulant dans les selles révèle qu'il n'existe pas de corrélation entre ces deux paramètres. En effet on aurait pu s'attendre à avoir une concentration importante en AVK dans le plasma lorsque le TQ est fortement augmenté. Pour certains chiens, plusieurs anticoagulants sont détectés dans le plasma, on décide donc de ne retenir que l'AVK ayant la plus forte concentration, en supposant que c'est ce dernier qui est responsable de l'augmentation du TQ. A nouveau, il est impossible de mettre en évidence une corrélation entre les deux paramètres. On observe, dans notre étude, un chien pour lequel on ne détecte pas l'anticoagulant dans le plasma alors que le TQ est très fortement augmenté. L'hypothèse principale permettant d'expliquer ces résultats est qu'une fois dans la circulation sanguine, la molécule anticoagulante est directement stockée dans le foie. La quantité d'AVK présente dans le sang ne correspond pas à la quantité totale d'AVK dans l'organisme, ce qui explique que le TQ puisse être très augmenté sans que la concentration en AVK dans le plasma le soit. Une autre étude (WADDELL et al.) (77) montre que la concentration en AVK dans le plasma n'est corrélée ni avec les signes cliniques ni avec le TQ. Ceci est expliqué par le fait que l'intervalle de temps entre l'ingestion du raticide et le dosage dans le plasma n'est pas le même chez tous les chiens puisqu'on ne connaît pas toujours la date de l'intoxication. D'autre part, la quantité ingérée n'est pas identique pour chaque chien et certains peuvent avoir consommé des AVK par ingestions unique ou répétées.

De même que pour le plasma, il n'existe pas de corrélation entre le TQ et la concentration en AVK dans les selles.

b) *Persistances des AVK dans les selles*

Le dosage des anticoagulants dans les fèces permet de comparer la persistance des molécules dans les selles et dans le plasma. Concernant les chiens intoxiqués, il semble que les AVK soient décelables plus longtemps dans les fèces que dans le sang. En effet, pour plusieurs chiens les AVK sont détectés dans le plasma seulement à V1 et pas à V2 alors qu'on les retrouve dans les selles jusqu'à C3, C4 voire C5 soit 28 jours après V1. Pour un chien, les anticoagulants sont soit en trop faibles quantité soit absents dans le sang et ne sont pas dosés, ils sont par ailleurs détectés dans les selles. Plusieurs études ont estimé les demi-vies plasmatiques des AVK. En 1998, ROBBEN et al. recrutent 21 chiens suspectés d'intoxications aux raticides et suivent la concentration en AVK dans le plasma. Ils déterminent la demi-vie plasmatique du brodifacoum (0,9 à 4,7 jours) et de la diféthialone (2,2 à 3,2 jours) (111). En 1992, WOODY et al déterminent également la demi-vie du brodifacoum (6 +/- 4 jours) sur 4 chiens intoxiqués au brodifacoum (112). La demi-vie du brodifacoum est différente d'une étude à l'autre et peut-être imputée à un protocole de fluidothérapie différent. En effet, dans l'étude de ROBBEN la

fluidothérapie était plus agressive ce qui a pu contribuer à une élimination plus rapide du brodifacoum. En définitive ces deux études illustrent l'élimination rapide des AVK dans le plasma, ce qui concorde avec le fait que, dans notre étude, les AVK ne soient plus détectés à V2.

Dans notre étude, les premières générations sont détectées jusqu'à C2 (un seul AVK de première génération est détecté à C3) alors que les secondes générations sont toujours décelables à C4 et à C5, soit jusqu'à 28 jours plus ou moins 3 jours, lorsque nous disposons des collectes. Ces composés présentent une rémanence plus longue que les premières générations dans l'organisme. En 2010, une étude (SAGE et al.), réalisée sur des renards, évalue les résidus de bromadiolone présents dans les fèces suite à l'ingestion de campagnols intoxiqués par cette molécule. Celle-ci est détectable jusqu'à la fin de l'étude soit 26 jours après l'ingestion des campagnols. De plus, la concentration à cet instant-là est largement supérieure à la limite de détection de la bromadiolone, les auteurs supposent donc que le composé serait encore décelable un certain temps dans les selles. Concernant le plasma, la bromadiolone n'est plus détectable entre le 7^{ème} et le 24^{ème} jour (74). Ces données sont en accord avec les résultats de notre étude. L'intervalle de temps sur lequel on détecte les secondes générations dans les selles pour nos chiens est semblable à celui des renards. En 2017, SELJETUN et al (113) étudient le cas d'un teckel intoxiqué par du coumatétralyl et du brodifacoum. Ces molécules persistent longtemps dans les fèces puisque le coumatétralyl est détecté jusqu'au 204^{ème} jour et le brodifacoum jusqu'au 531^{ème} jour. La demi-vie du coumatétralyl dans les fèces est estimée à 81 jours. Les données de cette étude suggèrent une persistance plus longue des AVK dans les selles que ce que nous estimons dans notre étude. Elle montre également une persistance des secondes générations supérieure à celle des premières générations.

De plus, il est important de souligner que les AVK apparaissent rapidement dans les selles. Effectivement, chez les renards, les anticoagulants sont détectés 15h après l'ingestion. Dans notre étude les anticoagulants sont tous détectables à V1. Les fèces semblent donc être une bonne matrice pour détecter les AVK incriminés lors d'intoxication. En effet, ils disparaissent rapidement dans le plasma, apparaissent rapidement dans les selles et persistent au moins plusieurs semaines. Le risque de faux négatif lors du dosage est donc moins important si l'on utilise les fèces comme matrice.

L'étude de SAGE montre également que les anticoagulants sont présents dans le foie à J26 (59). De plus, la demi-vie hépatique de la bromadiolone chez le rat est de 318 jours. Les anticoagulants sont présents dans cet organe sur une fenêtre de temps plutôt importante. Le foie pourrait être une matrice intéressante pour établir un diagnostic de certitude et connaître la molécule incriminée. Cependant, l'analyse toxicologique sur le foie nécessite de prélever du tissu hépatique sur un animal mort. Cette méthode diagnostic est intéressante pour des animaux sauvages décédés pour lesquels on voudrait avoir connaissance de la présence d'AVK dans le foie, mais elle ne retient pas notre attention dans le cadre des intoxications aux raticides sur les carnivores domestiques.

Les fèces seraient donc la matrice la plus adaptée pour réaliser un diagnostic de certitude dans le cadre d'une intoxication aux raticides. La persistance des anticoagulants pendant plusieurs semaines dans les selles permet d'éviter les faux négatifs que l'on pourrait avoir en dosant les molécules dans le plasma. De plus, la récolte des fèces est réalisable par le propriétaire, et c'est est une méthode non invasive à l'inverse au prélèvement sanguin. L'analyse toxicologique du foie permet également de réduire les risques de faux négatif puisque la demi-vie hépatique des anticoagulants est assez longue. Cependant, les prélèvements sont réalisés lors d'examen post-mortem, cette méthode est donc difficilement applicable dans le cadre des intoxications chez les chiens en pratique courante.

Le Tableau XXV récapitule les avantages et inconvénient des différentes matrices utilisées pour l'identification de l'AVK impliquée dans l'intoxication.

Tableau XXV: Avantages et inconvénients des matrices utilisées pour la détection des AVK dans l'organisme

Matrice	Avantages	Inconvénients	Risque de faux négatif
Plasma	Prélèvement rapide et simple	Disparition rapide des AVK dans le plasma Méthode invasive	+++
Foie	Persistance importante des AVK dans le foie	Prélèvement lors de l'examen post-mortem	+
Fèces	Persistance importante des AVK dans les fèces Prélèvement rapide et simple Méthode non invasive	Méthode analytique spécifique	+

BILAN

Cette étude confirme que l'intervalle de temps sur lequel les anticoagulants sont présents dans le plasma est court, et que la concentration plasmatique en anticoagulant ne reflète pas la quantité totale d'anticoagulants présente dans l'organisme.

De plus, notre travail permet de mettre en évidence une persistance plus longue des anticoagulants dans les selles que dans le plasma, suggérant que les fèces sont une meilleure matrice pour détecter et identifier la molécule incriminée. L'apparition des AVK dans les fèces est très rapide, la fenêtre de temps sur laquelle les molécules sont détectables dans les fèces est donc grande. Le risque de faux négatif est incontestablement moins important avec les selles qu'avec le plasma. La détection des AVK sur les fèces présente l'avantage de donner des meilleurs résultats lors de la recherche de la molécule mais elle est également plus facilement réalisable et moins invasive que le prélèvement sanguin pour l'analyse du plasma.

Enfin, l'étude comparative de la persistance des molécules de première et seconde génération dans les selles confirme que les secondes générations persistent plus longtemps dans l'organisme.

4. Etude des diastéréoisomères

L'étude des concentrations des composés cis et trans sous forme de pourcentage par rapport à la concentration totale nous permet de comparer l'évolution du ratio forme cis et trans du produit commercial avec le ratio contenu dans le plasma ou dans les selles.

Concernant le difénacoum, l'analyse statistique nous permet de conclure à une augmentation significative du pourcentage de forme cis et une diminution significative de forme trans dans le plasma et dans les selles. Ces deux matrices présentent donc un enrichissement du ratio en forme cis au cours du temps. Ceci peut être expliqué par plusieurs hypothèses. Tout d'abord nous pouvons supposer que la forme trans est éliminée plus rapidement que la forme cis. Le difénacoum détecté dans les selles et dans le plasma correspondra donc majoritairement à la forme cis lorsque l'on s'éloigne du moment de l'ingestion du toxique. Nous pouvons également supposer que l'enrichissement du ratio en forme cis résulterait d'une conversion de la forme trans en forme cis. Enfin, concernant l'enrichissement du sang en forme cis, on pourrait supposer que la forme trans serait très rapidement stockée dans le foie et donc de moins en moins présente dans le sang.

L'étude réalisée chez le rat (29) montre que la forme trans du difénacoum est éliminée prioritairement à la forme cis par le foie, l'hypothèse suggérant que la forme trans est stockée dans le foie chez le chien paraît peu probable. Il a également été montré chez le rat qu'il n'existait aucune conversion de la forme cis à la forme trans ou vice versa. Nous retiendrons donc la première hypothèse suggérant que le composé trans est prioritairement éliminé de l'organisme chez le chien par rapport à la forme cis.

A propos de la bromadiolone, on observe pour deux chiens sur trois que le ratio à V1 et C1 est différent du ratio de la préparation commerciale. Ceci peut être expliqué par le fait que le dosage du composé dans le plasma et dans les selles n'est pas réalisé directement après l'ingestion du toxique. En effet, les signes cliniques d'une intoxication aux AVK surviennent plusieurs jours après l'ingestion du raticide. L'intervalle de temps entre l'ingestion et l'apparition des signes cliniques pourrait expliquer cette différence dans les ratios. Nous ne disposons pas d'un nombre de valeur suffisant pour effectuer une analyse statistique mais il semblerait que la forme cis soit éliminée plus rapidement. Ce résultat concorde avec l'étude qui a été réalisée chez le rat (30).

Concernant le brodifacoum, un chien présente un ratio différent du ratio de la préparation commerciale. Comme pour la bromadiolone ceci peut être expliqué par l'intervalle de temps entre l'ingestion et le diagnostic qui peut être plus ou moins long. Là encore nous ne disposons pas d'un nombre de résultat suffisant pour une analyses statistique des résultats mais il semblerait que la forme trans soit la forme la plus rapidement éliminée, tout comme chez le rat (30).

Enfin, concernant la diféthialone, on ne détecte quasiment que la forme cis chez nos chiens intoxiqués, ceci est en accord avec la composition de la formulation commerciale.

BILAN

Nous avons montré, chez le chien, que lors d'intoxication au difénacoum le plasma et les fèces s'enrichissent en composé cis montrant ainsi que les composés trans sont éliminés plus rapidement de l'organisme.

Concernant la bromadiolone et le brodifacoum aucune étude statistique n'a pu être réalisée mais il semblerait que la forme la plus rapidement éliminée soit la forme cis pour la bromadiolone et la forme trans pour le brodifacoum.

Enfin pour la diféthialone il n'a pas été possible de comparer l'élimination des composés cis et trans puisque nous avons uniquement dosé la forme cis dans le plasma et dans les selles.

5. Durée de traitement des intoxications suivant la molécule incriminée

Actuellement aucune publication ne donne d'indications précises sur la durée de traitement à la vitamine K1, seules des recommandations ont été établies à partir d'expérience de vétérinaires. Les traitements à la vitamine K1 pouvant être longs, il est primordial de connaître la durée de traitement pour chaque molécule incriminée afin de ne pas instaurer un traitement trop court, et donc inefficace, ou un traitement trop long qui engendrerait des frais supplémentaires inutiles.

La durée de traitement est déterminée par les effets des AVK sur le processus de coagulation. Si le processus est altéré le TQ sera augmenté. Dans notre étude, tous les TQ lors de la deuxième visite (J21) sont normaux. Cependant l'effectif des chiens présentés en consultation à V2 est trop faible (12 chiens) pour pouvoir conclure. De plus, si le propriétaire n'a pas interrompu la vitamine K 48h avant la réalisation du TQ, celui-ci sera dans les valeurs usuelles.

Bien qu'il ne soit pas possible de se prononcer sur la durée de traitement exacte à instaurer d'après notre étude, on note tout de même une persistance plus importante des secondes générations dans le corps. Ceci suggère que la durée de traitement est plus importante pour cette classe de molécule. Il a été montré que l'accumulation d'AVK dans le foie pouvait contribuer à perturber le processus de coagulation, la persistance des raticides dans l'organisme est donc à relier à la durée de traitement (114) (111).

Les AVK disparaissent rapidement du plasma et sont stockés dans le foie jusqu'à plusieurs semaines (115). La demi-vie hépatique des AVK chez le chien est responsable de la persistance importante des AVK dans l'organisme. Plus la persistance est importante, plus les troubles de la coagulation perdurent. Le traitement à la vitamine K1 en sera d'autant plus long. Chez la souris, la demi-vie hépatique des molécules de première génération varie entre 15,8 et 66,8 heures et celle des deuxièmes générations entre 28,1 et 307,4 heures (116). La persistance hépatique des secondes générations étant plus longue que celle des premières générations le traitement antidotique sera également plus long.

Une étude à plus grande échelle et permettant un suivi plus régulier du temps de Quick est nécessaire pour établir une durée de traitement précise suivant la molécule impliquée. En effet, les résultats d'une étude à l'autre sont très différents. WOODY et al. (112) rapportent que dans le cas de chiens intoxiqués au brodifacoum, l'AVK est toujours détectable dans le plasma après l'arrêt de la vitamine K1, il n'y a pas de troubles de la coagulation.

BILAN

Notre étude ne permet pas de définir des durées de traitement pour chaque molécule anticoagulante. Cependant, nous confirmons que la persistance des secondes générations dans l'organisme est plus importante que les premières générations et nécessite un traitement plus long.

6. Utilisation des facteurs de coagulation pour le monitoring des intoxications aux AVK

En 2017, LEFEBVRE et al (96) étudient différentes méthodes permettant de monitorer les intoxications aux AVK chez le rat telles que le TQ, la thromboélastométrie ou encore le test de génération de la thrombine. Ils travaillent, également, sur l'évolution des concentrations des facteurs de coagulation vitamine K dépendants. Ils en concluent que les facteurs VII et X évoluent plus rapidement que le TQ, qui est actuellement le gold standard en matière de diagnostic pour ces intoxications. En effet, les demi-vies des facteurs VII et X sont respectivement, chez le rat, de 2,7 h et 4,9 h et le temps de doublement du TQ est estimé à 7,2 h. La concentration en facteur VII n'est plus détectable après 24h car trop faible. Le facteur X serait donc plus intéressant pour suivre les intoxications au-delà des premières 24h. Chez le rat, on retient donc que les facteurs VII et X sont des marqueurs plus précoces que le TQ pour diagnostiquer les intoxications aux raticides.

Dans notre étude, nous avons déterminé des valeurs témoins des concentrations des facteurs II, VII, IX et X à partir de 5 chiens sains, chez qui les dosages ont été effectués plusieurs fois. La fiabilité de ces résultats n'est pas optimale, en effet, l'échantillon est trop petit. Il ne permet pas d'étudier les variabilités des concentrations en fonction de l'âge, du sexe, etc. En effet, chez l'Homme, les facteurs II, VII, IX et X sont en concentration plus importante chez la femme que chez l'homme (117). Une étude récente a montré que, chez le rat, les concentrations en facteur VII et X sont significativement plus élevées chez les rats femelles par rapport aux rats mâles (118). Chez le chien, une étude est en cours, et consiste à doser les facteurs de coagulation sur un grand nombre de chiens sains afin d'établir des valeurs usuelles.

Cependant, les premiers résultats de cette étude montrent que les facteurs VII et X sont présents en quantité très faible lors de la visite d'inclusion pour la majorité des chiens. Tout de même, le facteur X semble être en quantité plus importante que le facteur VII. Le facteur IX est présent en quantité faible et le facteur II en quantité modérée. Si l'on s'intéresse aux demi-vies, le facteur ayant la demi-vie plasmatique la plus courte, soit 6h, est le facteur VII. Le facteur II est celui qui a la demi-vie la plus longue soit 60h. Ceci concorde avec nos résultats : le facteur

VII est le facteur le moins présent dans le plasma à V1 et présente la demi-vie plasmatique la plus courte, et le facteur II est le plus présent à V1 et présente la demi-vie la plus longue. A l'inverse, dans notre étude, le facteur X semble s'épuiser bien avant le facteur IX alors que sa demi-vie est légèrement supérieure à celle du facteur IX dans la littérature (44). Le facteur VII et X semblent être, chez le chien aussi, des marqueurs précoces d'intoxications, avec une disparition du facteur VII puis du facteur X.

Dans l'étude de LEFEBVRE et al, le TQ est réalisé à chaque dosage des facteurs de coagulation il est possible de comparer la rapidité d'évolution des différents paramètres et de déterminer lequel, du facteur VII ou X, permet les variations de la capacité de coagulation de l'organisme.

La corrélation entre le pourcentage d'activité du facteur X et le TQ montre que c'est le facteur X qui permet la diminution du TQ suite à l'administration d'AVK et la restauration du TQ suite à l'administration de vitamine K1 (Figure 52). Le facteur VII, lui, ne remplit pas ces deux conditions.

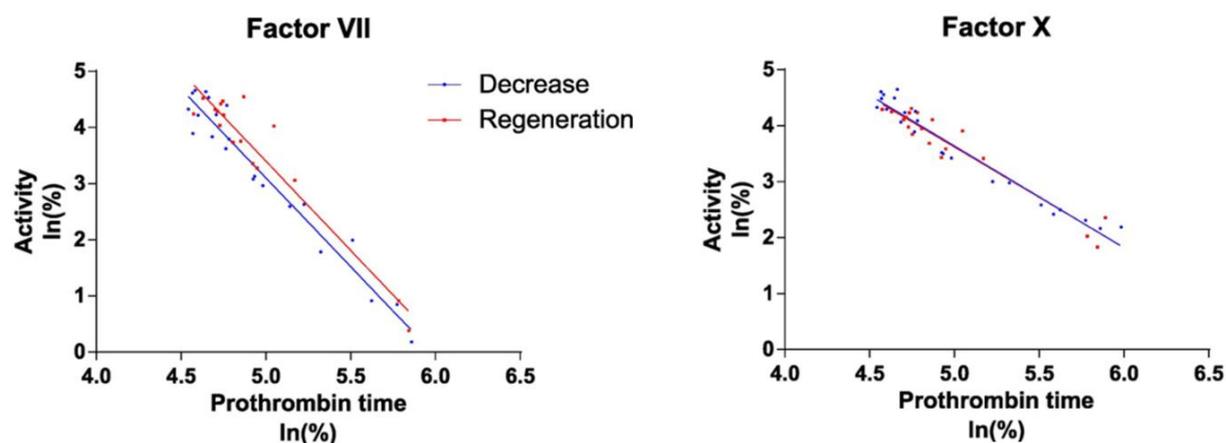


Figure 52: Activité du facteur VII et X en fonction du TQ d'après (96)

Dans notre cas, il est impossible de comparer le TQ et l'activité des facteurs VII et X puisque nous ne disposons pas d'un nombre suffisant de valeurs de TQ et de concentration en facteur de coagulation. Nous ne pouvons donc pas conclure quant au rôle du facteur X dans les variations du TQ chez le chien.

LEFEBVRE et al proposent d'utiliser le facteur X pour diagnostiquer et suivre les intoxications aux AVK chez les rats car la concentration en facteur X diminue très rapidement dans le plasma et est détectable après 24h. La concentration en facteur VII diminue très rapidement mais n'est plus détectable à 24h. Chez le chien, on a montré que les facteurs VII et X étaient consommés très rapidement. En revanche, il n'est pas possible de statuer de la supériorité du facteur X par rapport au facteur VII. Pour cela, il faudrait connaître l'instant t, lors duquel, le raticide a été consommé et réaliser plusieurs prélèvements sanguins au cours des premières 24h de l'intoxication. Dans notre étude nous ne disposons que d'un prélèvement sanguin au début de l'intoxication et nous ne connaissons pas exactement la date de l'ingestion du raticide.

A ce jour, l'étude de l'activité des facteurs de coagulation vitamine-K dépendants dans le diagnostic des troubles de la coagulation est très peu utilisée en médecine vétérinaire. Pourtant en médecine humaine, cet outil est plus fréquemment employé, notamment lorsqu'un patient présente un TQ augmenté. Le TQ nous renseigne sur une anomalie de la voie extrinsèque dont l'origine peut être variée. L'étude des facteurs de coagulation permet de préciser le diagnostic et peut nous orienter vers une déficience en vitamine K (119) (120). En 2012, une étude randomisée en double aveugle évalue la capacité de l'INR (International Normalized Ratio) à guider les administrations de PPC (Prothrombin complex concentrates) chez des patients traités par des anticoagulants par voie orale. Il s'avère que l'INR ne serait pas un outil assez performant pour être utilisé seul lors d'administration de PPC (121). Chez le rat, il a été montré que les paramètres utilisés en thromboélastométrie présentaient une évolution trop variable et un temps de latence trop important pour le diagnostic des intoxications. Chez l'homme et le rat, la thromboélastométrie ne semble pas être la technique la plus appropriée pour suivre les intoxications aux anti-vitamines K (122) (96).

Cette remise en cause de l'utilisation du TQ en médecine humaine est à considérer en médecine vétérinaire. Dans le cadre des intoxications aux raticides anticoagulants, il serait intéressant d'étudier, plus en détail chez le chien, la cinétique des facteurs de coagulation vitamine K dépendants dans les premières 24 h suivant l'ingestion de l'anticoagulant.

BILAN

L'utilisation du TQ seul (sous la forme INR) chez l'homme n'est plus considérée comme étant l'outil le plus sensible et adapté pour monitorer les troubles de la coagulation ayant pour origine une déficience en vitamine K.

Chez le rat, il a été montré que les facteurs VII et X évoluent plus rapidement que le TQ lors d'intoxications aux AVK et que le facteur X est responsable de la variation du TQ lors d'administration d'AVK et de sa restauration lors d'administration de vitamine K1.

L'analyse des facteurs de coagulation vitamine K dépendant chez le chien permet de mettre en évidence que les facteurs VII et X sont des marqueurs précoces des intoxications aux raticides. Cependant, il n'est pas possible de juger si l'évolution des facteurs est plus rapide que celle du TQ et lequel des facteurs VII ou X est le plus approprié pour suivre ces intoxications.

7. Perspective de l'étude

Cette étude préliminaire ne permet pas d'analyser les données avec des outils statistiques du fait du faible effectif de la population de chiens intoxiqués. Une étude à plus grande échelle serait nécessaire afin de recruter un plus grand nombre de chiens.

Il pourrait également être intéressant d'étudier les paramètres de la coagulation (TQ et facteurs de coagulation) dans les heures suivant l'ingestion du toxique afin de savoir quel paramètre est le plus rapidement modifié. Ceci risque d'être complexe à mettre en œuvre dans notre étude puisqu'on ne connaît pas toujours le moment de l'ingestion et, lorsqu'on le connaît, la prise en charge thérapeutique consiste en l'élimination du toxique par induction de vomissements. Dans l'absolu, il faudrait mener une étude sur des chiens d'expérimentation intoxiqués volontairement pour l'étude. Ceci nous permettrait de connaître la dose ingérée de toxique ainsi que le moment exact de l'ingestion.

Dans le but d'établir des durées de traitement précise suivant la molécule incriminée, il serait envisageable, dans notre étude, de doser le TQ chaque semaine afin de définir une fenêtre de temps précise au cours de laquelle il se normalise. L'inconvénient de ce nouveau calendrier serait la nécessité de se rendre chez le vétérinaire toutes les semaines afin de réaliser un prélèvement sanguin.

Conclusion

A l'heure actuelle, la lutte contre les rongeurs passe majoritairement par l'utilisation de raticides anticoagulants. Ces composés sont divisés en deux classes : les premières générations et les secondes générations. Ces dernières ont été mises sur le marché suite à l'apparition de résistances des rongeurs aux premières générations. Les anti-vitamine K présentent une toxicité pour les espèces non cibles telles que les animaux de la faune sauvage et nos carnivores domestiques. La toxicité des composés de seconde génération est grande et pose aujourd'hui un réel problème.

Les intoxications aux anti-vitamine K sont fréquentes chez le chien. Le diagnostic est parfois difficile lorsque le phénomène hémorragique n'est pas visualisable. Les symptômes sont alors peu spécifiques. De plus, les signes cliniques surviennent de façon différée par rapport à l'ingestion du toxique. Un bilan de coagulation, avec la réalisation d'un temps de Quick, permet d'orienter le diagnostic vers ce type d'intoxication mais le diagnostic de certitude passe par le dosage de l'anticoagulant dans le plasma ou dans le foie. Le traitement antidotique repose sur l'administration de vitamine K pendant plusieurs semaines suivant la molécule incriminée. Aucune des durées de traitement que nous utilisons aujourd'hui n'a été validée par des études.

Récemment, des études ont été menées, sur le rat, dans le but de concevoir une troisième génération de raticides anticoagulants toute aussi efficace que la précédente mais moins toxique pour les espèces non-cibles. Elle serait composée des diastéréoisomères des molécules de seconde génération les moins rémanente dans l'organisme.

D'autres études chez l'homme et le rat ont montré que le temps de Quick ne serait pas la méthode la plus sensible et la plus rapide pour diagnostiquer les intoxications aux AVK. Une étude chez le rat suggère que les facteurs VII et X, et plus particulièrement le facteur X, serait intéressant pour détecter les intoxications plus rapidement qu'avec le temps de Quick.

Nous avons mis en place une étude multicentrique observationnelle recrutant des chiens pour lesquels les vétérinaires suspectent une intoxication aux anticoagulants. Des prélèvements sanguins et fécaux sont réalisés au cours de l'étude et permettent de suivre la cinétique des antivitamines K dans l'organisme. Nous avons été confrontés aux difficultés liées aux études multicentrique, c'est-à-dire recruter un nombre de cas suffisant. La population de chien étudiée regroupe 21 chiens donc 14 seulement s'avèrent être intoxiqués.

Les molécules majoritairement impliquées dans notre étude sont des composés de seconde génération. D'après notre sondage, dans les produits proposés à la vente, les secondes générations sont également majoritaires. Ce constat nous confirme qu'il est nécessaire, aujourd'hui, de mettre en place, aujourd'hui, une troisième génération de molécule moins toxique pour les espèces non-cibles.

Malgré le faible nombre de chiens intoxiqués et recrutés, notre étude nous a permis de mettre en évidence que les anticoagulants persistent jusqu'à plusieurs semaines dans les fèces contrairement au plasma. Les fèces seraient donc une meilleure matrice que le plasma pour réaliser un diagnostic de certitude et identifier la molécule incriminée. L'utilisation des fèces pourrait, ainsi, réduire le risque de faux-négatif lié à l'utilisation du plasma comme matrice de recherche des anticoagulants. L'utilisation des selles présente un avantage non négligeable par rapport à l'utilisation du foie puisque l'examen peut se réaliser sur animal vivant. L'analyse des

diastéréoisomères a permis de mettre en évidence que l'isomère trans du difénacoum est éliminé plus rapidement de l'organisme que le composé cis. Concernant la bromadiolone et le brodifacoum nous avons seulement pu dégager des tendances : l'isomère cis est plus rapidement dans le cas de la bromadiolone alors que c'est le composé trans qui est éliminé plus rapidement pour le brodifacoum. Enfin pour la diféthialone nous n'avons pas pu comparer la rémanence des composés puisque seul le composé cis était présent.

Concernant l'étude de la cinétique des facteurs de coagulation lors des intoxications aux AVK, celle-ci révèle que les facteurs VII et X s'épuisent très rapidement chez le chien et pourrait permettre un diagnostic plus précoce des intoxications aux raticides que le temps de Quick qui est, actuellement, le gold standard. Cependant le suivi des facteurs de coagulation dans plasma étant trop dispersé dans le temps il impossible de statuer quant à la supériorité du facteur X à monitorer les intoxications aux raticides par rapport au facteur VII.

Cette étude a permis de dégager des tendances sur certains points déjà étudiés de façon précise chez le rat. Il serait intéressant de poursuivre cette étude à grande échelle afin d'analyser statistiquement les résultats voire de réaliser une étude sur des chiens auxquels nous administrerions, nous même, des anticoagulants par voie orale afin de monitorer, avec précision, les paramètres de la coagulation comme cela a été effectué sur le rat.

Bibliographie

1. QUERE JP, LE LOUARN H. Les rongeurs de France: faunistique et biologie. 3ème édition. Versailles: Quae; 2011. 312 p.
2. WOOD BJ, SINGLETON G. Rodents in agriculture and forestry. In: Rodent pests and their control. 2nd edition. Oxfordshire: Cabi; 2015. p. 33-80.
3. DRAAF Auvergne Rhône Alpes. Plaquette campagnol terrestre [Internet]. 2017 [cité 5 juin 2018]. Disponible sur: http://draaf.auvergne-rhone-alpes.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/2017_-Plaquette_Campagnol_FREDON_Auv_cle4841a7.pdf
4. DESTREZ A, PERROT E, GRANGER S, GAILLARD C, MICHELIN Y. Les impacts du campagnol terrestre sur les systèmes fourragers : le cas de l'élevage bovin allaitant en Bourgogne. Fourrages. 2004;220:291-6.
5. Accident de train à Pau: des rongeurs à l'origine de la collision. Le monde [Internet]. 2014 [cité 17 mai 2018]; Disponible sur: http://www.lemonde.fr/economie/article/2014/07/27/accident-de-train-a-pau-des-rongeurs-a-l-origine-de-la-collision_4463502_3234.html
6. ORGANISME MONDIAL DE LA SANTE. Zoonoses et environnement [Internet]. WHO. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: http://www.who.int/foodsafety/areas_work/zoonose/fr/
7. KEELING MJ, GILLIGAN CA. Bubonic plague: a metapopulation model of a zoonosis. Proc R Soc B Biol Sci. 2000;267(1458):2219-30.
8. BREGMAN B, SLAVINSKI S. Using emergency department data to conduct dog and animal bite surveillance in New York City, 2003-2006. Public Health Rep. 2012;127(2):195-201.
9. BATTERSBY SA. Rodents as carriers of disease. In: Rodent pests and their control. 2nd edition. Oxfordshire: Cabi; 2015. p. 81-100.
10. FRANCEINFO. Grève des éboueurs : la colère des Marseillais [Internet]. [cité 5 juin 2018]. Disponible sur: https://www.francetvinfo.fr/economie/greve/greve-des-eboueurs-la-colere-des-marseillais_2425479.html
11. MINISTERE DE L'AGRICULTURE. Article L228-3. Code rural et de la pêche maritime.
12. ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE. FAO - Nouvelles: Solution novatrice au problème dramatique des rongeurs en RDP lao [Internet]. [cité 5 juin 2018]. Disponible sur: <http://www.fao.org/news/story/fr/item/29492/icode/>
13. SEGEV G, YAS-NATAN E, SHLOSBERG A, AROCH I. Alpha-chloralose poisoning in dogs and cats: a retrospective study of 33 canine and 13 feline confirmed cases. Vet J Lond Engl 1997. 2006;172(1):109-13.
14. YOGENDRANATHAN N, HERATH H, SIVASUNDARAM T, CONSTANTINE R, KULATUNGA A. A case report of zinc phosphide poisoning: complicated by acute renal failure and tubulo interstitial nephritis. BMC Pharmacol Toxicol. 2017;18(1):37.
15. BERNY P. Intoxications par les rodenticides anticoagulants. PratiqueVet. 2018;53(158):192-7.
16. LIPHATECH. Contrôle des Rongeurs - Liphatech [Internet]. [cité 5 juin 2018]. Disponible sur: <https://france.liphatech.fr/3-contrôle-des-rongeurs>
17. LODI GROUP. Hygiène publique - Rodenticides [Internet]. [cité 5 mai 2018]. Disponible sur: <http://www.lodi-group.fr/fr/hygiene-publique/rodenticides.html>
18. GAMELIN L, HARRY P. Rodenticides. EMC-Toxicol-Pathol. 2005;2(3):89-97.
19. CAMPBELL HA, ROBERTS WL, LINK KP, SMITH WK. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease: I the preparation of hemorrhagic concentrates. J Biol Chem. 1941;136:47-55.
20. BUCKLE AP, SMITH RH. Rodent pests and their control. 2nd edition. Oxfordshire: Cabi; 2015. 422 p.

21. MURPHY MJ. Anticoagulant rodenticides. In: Veterinary toxicology basic and clinical principles. 2nd édition. Londres: Academic Press Elsevier; 2012. p. 1438.
22. PUBCHEM. The PubChem Project [Internet]. [cité 1 juin 2018]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
23. VIDAL. VIDAL - Warfarine [Internet]. [cité 1 juin 2018]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/substances/5865/warfarine/>
24. BOYLE M. Case of apparent resistance of *Rattus norvegicus* Berkenhout to anticoagulant poison. *Nature*. 1960;188:517-25.
25. PETTERINO C, PAOLO B. Toxicology of various anticoagulant rodenticides in animals. *Vet Hum Toxicol*. 2001;43(6):353-60.
26. CALONI F, CORTINOVIS C, RIVOLTA M, DAVANZO F. Suspected poisoning of domestic animals by pesticides. *Sci Total Environ*. 2016;539:331-6.
27. BERNY P, CALONI F, CROUBELS S, SACHANA M, VANDERBROUCKE V, DAVANZO F, et al. Animal poisoning in Europe. Part 2: companion animals. *Vet J*. 2010;183:255-9.
28. VALCHEV I, BINEV R, YORDANOVA V, NIKOLOV Y. Anticoagulant rodenticide intoxication in animals: a review. *Turk J Vet Anim Sci*. 2008;32(4):237-43.
29. DAMIN-PERNIK M, ESPANA B, BESSE S, FOUREL I, CARUEL H, POPOWYCZ F, et al. Development of an Ecofriendly Anticoagulant Rodenticide Based on the Stereochemistry of Difenacoum. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2016;44(12):1872-80.
30. DAMIN-PERNIK M, ESPANA B, LEFEBVRE S, FOUREL I, CARUEL H, BENOIT E, et al. Management of Rodent Populations by Anticoagulant Rodenticides: Toward Third-Generation Anticoagulant Rodenticides. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem*. 2017;45(2):160-5.
31. LEVINE WG. Oral anticoagulants. In: The pharmacological basis of therapeutics. 5ème édition. New York: Macmillan company; 1975. p. 1704.
32. MURPHY MJ. Rodenticides. *Vet Clin North Am*. 2002;32(2):469-84.
33. PLUMB DC. Plumb's veterinary drug handbook. 8ème édition. Iowa: Wiley blackwell; 2015. 1280 p.
34. EASON C, MILNE L, POTTS M, MORRIS G, WRIGHT G, SUTHERLAND O. Secondary and tertiary poisoning risks associated with brodifacoum. *N Z J Ecol*. 1999;23(2):6.
35. THIJSEN HH, BAARS LG. Tissue distribution of selective warfarin binding sites in the rat. *Biochem Pharmacol*. 1991;42(11):2181-6.
36. PETTERINO C, PAOLO B, TRISTO G. Clinical and pathological features of anticoagulant rodenticide intoxications in dogs. *Vet Hum Toxicol*. 2004;46(2):70-5.
37. STOCKHAM SL, SCOTT MA. Fundamentals of veterinary clinical pathology. 2nd edition. Iowa: Blackwell publishing; 2008. 908 p.
38. GALE AJ. Current understanding of hemostasis. *Toxicol Pathol*. 2011;39(1):273-80.
39. CINES DB, POLLAK ES, BUCK CA, LOSCALZO J, ZIMMERMAN GA, MCEVER RP, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998;91(10):3527-61.
40. NIESWANDT B, BRAKEBUSH C, BERGMEIER W, SCHULTE V, BOUVARD D, MOKHTARI-NEJAD R, et al. Glycoprotein VI but not $\alpha 2\beta 1$ integrin is essential for platelet interaction with collagen. *EMBO J*. 2001;20(9):2120-30.
41. VARGA-SZABO D, PLEINES I, NIESWANDT B. Cell Adhesion Mechanisms in Platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(3):403-12.

42. CLOET-CHABRE B. 1ère partie: Physiologie de l'hémostase primaire, la coagulation plasmatique et la fibrinolyse. *Prat Médicale Chir Anim Cie.* 1996;31(4):279-89.
43. VAN SITTERT NJ, TUINMAN CP. Coumarin derivatives (rodenticides). *Toxicology.* 1994;91(1):71-6.
44. MASON D, ABRAMS-OGG A, ALLEN D, GENTRY P, GADD K. Vitamin K-dependent coagulopathy in a black Labrador Retriever. *J Vet Intern Med.* 2002;16(4):485-8.
45. ACADEMIE NATIONALE DE MEDECINE. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 24 mai 2018]. Disponible sur: <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=PPSB>
46. SAKATA Y, LOSKUTOFF DJ, GLADSON CL, HEKMAN CM, GRIFFIN JH. Mechanism of protein C-dependent clot lysis: role of plasminogen activator inhibitor. *Blood.* 1986;68(6):1218-23.
47. ROSING J, MAURISSEN LFA, TCAIKOVSKI SN, TANS G, HACKENG TM. Protein S is a cofactor for tissue factor pathway inhibitor. *Thromb Res.* 2008;122:S60-3.
48. BROOKS MB. Overview of hemostasis. In: Schalm's veterinary hematology. 6ème édition. Iowa: Wiley blackwell; 2010. p. 1206.
49. KIRCHHOFER D, NEMERSON Y. Initiation of blood coagulation: the tissue factor/factor VIIa complex. *Curr Opin Biotechnol.* 1996;7:386-91.
50. DAHLBACK B. Blood coagulation. *The lancet.* 2000;355:1627-32.
51. RIVERA. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. 2009;700-11.
52. DAY M., MACKIN A, LITTLEWOOD J. Manual of canine en feline haematology and transfusion medicine. Gloucester: British small animal veterinary association; 2000. 320 p.
53. QUINSEY N, GREEDY A, BOTTOMLEY S, WHISSTOCK J, PIKE R. Antithrombin: in control of coagulation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(3):386-9.
54. CRAMER T, GRIFFIN J, GALE A. Factor V Is an Anticoagulant Cofactor for Activated Protein C during Inactivation of Factor Va. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2010;37(1):17-23.
55. DAM H. Cliv. the antihemorrhagic vitamin of the chick. *Biochem J.* 1935;29:1273-85.
56. DWYER CJ, DOWNING G, GABOR L. Dicoumarol toxicity in neonatal calves associated with the feeding of sweet vernal (*Athoxanthum odoratum*) hay. *Aust Vet J.* 2003;81(6):332-5.
57. SIGURET V. Vitamine K : métabolisme, éléments de physiopathologie, implication dans la variabilité inter- et intraindividuelle de la réponse au traitement par les antivitamines K. *Hématologie.* 2006;12(6):389-99.
58. REUMANN S. Biosynthesis of vitamin K1 (phylloquinone) by plant peroxisomes and its integration into signaling molecule synthesis pathways. *Subcell Biochem.* 2013;69:213-29.
59. MCDOWELL LR. Vitamins in animal and human nutrition. 2nde édition. Ames: Iowa State University Press; 2000. 793 p.
60. BARTHELEMY J, RULL-ESPAGNOL F, LACROIX J, LACROIX R. Les vitamines K. *Lyon Pharm.* 1990;41(4):317-26.
61. RIVIERE J, PAPICH M. Veterinary pharmacology and therapeutics. 9ème édition. Iowa: Wiley blackwell; 2009. 1524 p.
62. BAHRI LE. Vitamin K. *Compend Contin Educ Pr Vet.* 2005;27(1):43-6.
63. STAFFORD DW. The vitamin K cycle. *J Thromb Haemost JTH.* 2005;3(8):1873-8.
64. MURRAY, BENDER, BOTHAM, KENNELLY, RODWELL, WEIL. Biochimie de Harper. 5ème édition. Bruxelles: De Boeck; 2013.

65. MOUNT M. Diagnosis and therapy of anticoagulant rodenticide intoxications. *Vet Clin North Am.* 1988;18(1):115-30.
66. LUND M. Resistance to Warfarin in the Common Rat. *Nature.* 1964;203(4946):778.
67. GREAVES JH. Resistance to anticoagulant rodenticides. In: Buckle AP and Smith R *Rodent pests and their control.* 1ère édition. Wallingford: CABI; 2015. p. 197-217.
68. GOULOIS J. Diversité des modes de résistance de cible aux antivitaminés K chez les rongeurs [Thèse de doctorat]. [Marcy l'étoile]: Université Claude Bernard Lyon 1; 2016.
69. POPPENG R. Toxicological emergency. In: *Feline emergency and critical care medicine.* Ames: Wiley blackwell; 2010. p. 656.
70. CLOET-CHABRE B. 3ème partie: L'hémostase et la fibrinolyse: les affections de la coagulation plasmatique et de la fibrinolyse. *Prat Médicale Chir Anim Cie.* 1998;33(5):363-73.
71. SHEAFOR S, COUTO C. Anticoagulant rodenticide toxicity in 21 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1999;35(1):38-46.
72. BLOCKER TL, ROBERTS BK. Acute tracheal obstruction associated with anticoagulant rodenticide intoxication in a dog. *J Small Anim Pract.* 1999;40(12):577-80.
73. SILVERSTEIN D, HOPPER K. *Small animal critical care medicine.* 2nde édition. St Louis: Elsevier; 2009. 592-594 p.
74. SAGE M, FOUREL I, COEURDASSIER M, BARRAT J, BERNY P, GIRAUDOUX P. Determination of bromadiolone residues in fox faeces by LC/ESI-MS in relationship with toxicological data and clinical signs after repeated exposure. *Environ Res.* 2010;110(7):664-74.
75. MURPHY MJ. Rodenticides toxicosis. In: *Kirk's Current veterinary therapy.* 15ème édition. St Louis: Saunders Elsevier; 2014. p. 1413.
76. GRIGGS A., ALLBAUGH R., TOFFLEMIRE KL, BEN-SHLOMO G, WHITLEY D, PAULSEN ME. Anticoagulant rodenticide toxicity in six dogs presenting for ocular disease. *Vet Ophthalmol.* 2016;19(1):73-80.
77. WADDELL L, POPPENG R, DROBATZ KJ. Anticoagulant rodenticide screening in dogs: 123 cases (1996-2003). *JAVMA.* 2013;242(4):516-21.
78. LAWSON C, O'BRIEN M, McMICHAEL M. Upper Airway Obstruction Secondary to Anticoagulant Rodenticide Toxicosis in Five Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2017;53(4):236-41.
79. CHABANNE L. Le diagnostic et les examens complémentaires en hématologie chez le chien et le chat. *Nouv Prat Vét Canine Féline.* 2004;(Hors série):75-81.
80. HANSEN N, BECK C. Bilateral hydronephrosis secondary to anticoagulant rodenticide intoxication in a dog. *J Vet Emerg Crit Care.* 2003;13(2):103-7.
81. PACHTINGER G, OTTO C, SYRING R. Incidence of prolonged prothombin time in dogs following gastrointestinal decontamination for acute anticoagulant rodenticide ingestion. *J Vet Emerg Crit Care.* 2008;18(3):285-91.
82. POULIQUEN H. Toxicologie des carnivores domestiques: intoxication par un rodenticide anticoagulant. *Point Vét.* 2001;32(221):36-9.
83. LATIMER KS. *Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine. Clinical pathology.* 5ème édition. Ames: Wiley blackwell; 2011. 509 p.
84. GOUGH A, MURPHY K. *Differential diagnosis in small animal medicine.* 2ème édition. Ames: Blackwell publishing; 2015. 446 p.
85. MAZZAFERRO E. *Small animal emergency and critical care.* 2nde édition. Hoboken, London: John Wiley & Sons; 2018. 871 p.

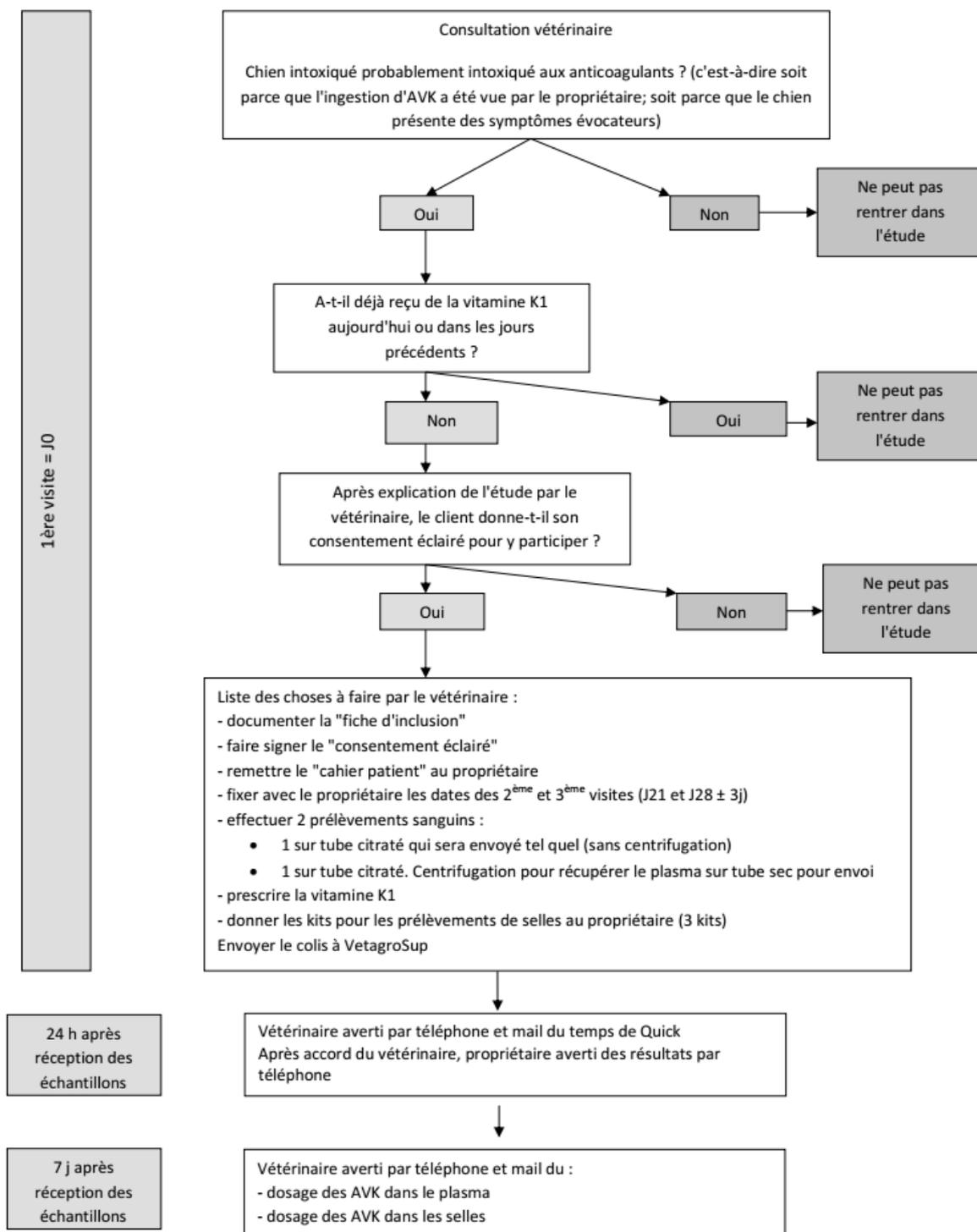
86. GOOD KL, NEWELL SM, COOKE KL. What is your diagnosis? Rodenticide poisoning. *J Small Anim Pract.* 1999;40(10):464, 502-3.
87. LEE W, CHUNG H, KIM S, JANG S, PARK C, CHI H, et al. PIVKA-II is a candidate marker for monitoring the effects of the oral anticoagulant warfarin. *Clin Biochem.* 2010;43(13-14):1177-9.
88. MOUNT M, KIM B, KASS P. Use of a test for proteins induced by vitamin K absence or antagonism in diagnosis of anticoagulant poisoning in dogs: 325 cases (1987-1997). *J Am Vet Med Assoc.* 2003;222(2):194-8.
89. ROZANSKI E, DROBATZ KJ, HUGHER D, SCOTTI M, GIGER U. Thrombotest (PIVKA) Test Results in 25 Dogs with Acquired and Hereditary Coagulopathies. *J Vet Emerg Crit Care.* 9(2):73-8.
90. CAMPBELL A, CHAPMANN M. Anticoagulant rodenticide. In: *Handbook of poisoning in dogs and cats.* 1ère édition. Oxford: Blackwell Science; 2000. p. 272.
91. ANSES. Résumé des caractéristiques du produit Emedog 1 mg/mL solution injectable pour chiens [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=EMEDOG+1+MG%2FML+SOLUTION+INJECTABLE+POUR+CHIENS>
92. LABORATOIRE TVM. Carbodote [Internet]. [cité 22 mai 2018]. Disponible sur: http://www.tvm.fr/Fiche_anglaise/carbodote/
93. HACKNER S. Haematological emergencies. In: *Manual of canine and feline emergency and critical care.* 2nde édition. Gloucester: British small animal veterinary association; 2007.
94. CAMBOURNAC M. Conduite à tenir face à une intoxication aux anticoagulants anitvitamine K. *PratiqueVet.* 2015;50(132):688-91.
95. SPILLER H, GALLENSTEIN G, MURPHY MJ. Dermal absorption of a liquid diphacinone rodenticide causing coagulaopathy. *Vet Hum Toxicol.* 2003;45(6):313-4.
96. LEFEBVRE S, HASCOET C, DAMIN-PERNIK M, RANNOU B, BENOIT E, LATTARD V. Monitoring of antivitamin K-dependent anticoagulation in rodents - Towards an evolution of the methodology to detect resistance in rodents. *Pestic Biochem Physiol.* 2017;138(2017):29-36.
97. ANSES. Résumé des caractéristiques du produit vitamine K1 injectable [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=VITAMINE+K1+INJECTABLE+TVM>
98. ANSES. Résumé des caractéristiques du produit vitamine K1 comprimés [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=VITAMINE+K1+COMPRIMES+TVM>
99. FOUREL I, DAMIN-PERNIK M, BENOIT E, LATTARD V. Core-shell LC-MS/MS method for quantification of second generation anticoagulant rodenticides diastereoisomers in rat liver in relationship with exposure of wild rats. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2017;1041-1042:120-32.
100. BUCKLE A. Anticoagulant resistance in the United Kingdom and a new guideline for the management of resistant infestations of Norway rats (*Rattus norvegicus* Berk.). *Pest Manag Sci.* 2013;69(3):334-41.
101. RODENTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. Resistance maps [Internet]. [cité 30 mai 2018]. Disponible sur: <http://guide.rrac.info/resistance-maps/france/>
102. FEINSTEIN DL, BRODSKY S, WEINBERG G, VAN BREEMAN R, RUBINSTEIN I. Brodifacoum poisoning: A clear and present danger to public health in the USA. *Toxicol Lett.* 2017;268:71-2.
103. COMMISSION EUROPEENE. Règlement (UE) 2016/1179 de la Commission du 19 juillet 2016 modifiant, aux fins de son adaptation au progrès technique et scientifique, le règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) [Internet]. *Journal officiel de l'Union européenne,* 32016R1179 juill 20, 2016. Disponible sur: <http://data.europa.eu/eli/reg/2016/1179/oj/fra>

104. YURDAKOK M. Fetal and neonatal effects of anticoagulants used in pregnancy: a review. *Turk J Pediatr.* 2012;54(3):207-15.
105. BASU S, AGGARWAL P, KAKANI N, KUMAR A. Low-dose maternal warfarin intake resulting in fetal warfarin syndrome: In search for a safe anticoagulant regimen during pregnancy. *Birt Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2016;106(2):142-7.
106. INRS. Warfarine (Coumafène). Généralités - Fiche toxicologique [Internet]. [cité 14 mai 2018]. Disponible sur: http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_216
107. BAYER ENVIRONMENTAL SCIENCE. Nouvelle réglementation pour les rodenticides [Internet]. [cité 14 mai 2018]. Disponible sur: <https://www.environmentalscience.bayer.fr/Hygiene-publique-rurale/Actualites/Actualites-2018/Reglementation-AVK>
108. XIANG L, MIN Z, ALAN Z, YAOHUI W. Retrospective study of twenty-four patients with prolonged coagulopathy due to long-acting anti-vitamin K rodenticide poisoning. *Am J Med Sci.* 2014;347(4):299-304.
109. BOITET M. Nouveaux mécanismes de résistance aux anti-vitamines K: une même mutation du gene *vkorc1* pour deux phénotypes différents chez le rat brun *rattus norvegicus* (mutation L120Q) [Thèse d'exercice vétérinaire]. [Marcy l'étoile]: Université Claude Bernard Lyon 1; 2016.
110. LASSEUR R. Evolution de la classification des rodenticides anticoagulants en mars 2018. 2016;
111. ROBBEN JH, KUIJPERS EAP, MOUT HCA. Plasma superwarfarin levels and vitamine K1 treatment in dogs with anticoagulant rodenticide poisoning. *Vet Q.* 1998;
112. WOODY BJ, MURPHY MJ, RAY AC, GREEN RA. Coagulopathic effects and therapy of brodifacoum toxicosis in dogs. *J Vet Intern Med.* 1992;6(1):23-8.
113. SELJETUN KO, ELIASSEN E, KARINEN R, MOE L, VINDENES V. Quantitative method for analysis of six anticoagulant rodenticides in faeces, applied in a case with repeated samples from a dog. *Acta Vet Scand.* 2018;60(3).
114. BEASLEY VR, BUCK WB. Warfrin and other anticoagulant poisonings. In: *Current veterinary therapy Small animal practice.* 8ème édition. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1983. p. 1267.
115. DUVALL MD, MURPHY MJ, RAY AC, REAGOR JC. Case Studies on Second-Generation Anticoagulant Rodenticide Toxicities in Nontarget Species. *J Vet Diagn Invest.* 1989;1(1):66-8.
116. VANDENBROUCKE V, BOUSQUET-MELOU A, DE BACKER P, CROUBELS S. Pharmacokinetics of eight anticoagulant rodenticides in mice after single oral administration. *J Vet Pharmacol Ther.* 2008;31(5):437-45.
117. KAIN K, CARTER AM, BAMFORD JM, GRANT PJ, CATTO AJ. Gender differences in coagulation and fibrinolysis in white subjects with acute ischemic stroke. *J Thromb Haemost.* 2003;1(2):390-2.
118. LEFEBVRE S, RANNOU B, BESSE S, BENOIT E, LATTARD V. Origin of the gender differences of the natural resistance to antivitamin K anticoagulants in rats. *Toxicology.* 2016;344-346:34-41.
119. KIM S, CHO S, LEE H, SUH J, OH S, LEE W, et al. Superwarfarin intoxication of unknown etiology accompanying hemoperitoneum in a patient on fluconazole therapy. *Ann Clin Lab Sci.* 2010;40(3):300-3.
120. SPAHR J, MAUL J, RODGERS G. Superwarfarin poisoning: a report of two cases and review of the literature. *Am J Hematol.* 2007;82(7):656-60.
121. SOLBECK S, OSTROWSKI S, JOHANSSON P. A review of the clinical utility of INR to monitor and guide administration of prothrombin complex concentrate to orally anticoagulated patients. *Thromb J.* 2012;10(1):5.
122. DUNHAM C, RABEL C, HILEMAN B, SCHIRALDI J, CHANCE E, SHIMA M, et al. TEG® and RapidTEG® are unreliable for detecting warfarin-coagulopathy: a prospective cohort study. *Thromb J.* 2014;12:4.

Annexes

Annexe 1 : Schéma décisionnel (V1)

 	Fiche suivi visite	N° code protocole. : PIR
	<u>Schéma décisionnel de la visite d'inclusion</u>	N° Version : 1



	Formulaire de consentement	N° code protocole. : PIR
	Etude du suivi des intoxications aux rodenticides anticoagulants chez le chien.	N° Version : 1 Nombre de pages : 5

1 Information essentielle à votre décision de participer

Introduction

Vous êtes invité à participer avec votre chien à une étude clinique observationnelle. Cela signifie que le traitement mis en place respecte les bonnes pratiques médicales relatives aux intoxications par les raticides anticoagulants en l'état actuel des connaissances scientifiques. Nous vous demandons simplement l'autorisation de pouvoir collecter des données cliniques de façon à pouvoir les comparer avec celles d'autres chiens et de les traiter statistiquement afin d'améliorer les connaissances médicales et permettre d'optimiser la prise en charge de ces intoxications.

Hormis les prélèvements de selles et de sang, aucune procédure supplémentaire de diagnostic ou de surveillance ne vous sera proposée.

Avant que vous n'acceptiez de faire participer votre chien à cette étude, nous vous invitons à prendre connaissance de ses implications en termes d'organisation, avantages et risques éventuels, afin que vous puissiez prendre une décision en toute connaissance de cause. Ceci s'appelle donner un « consentement éclairé ».

Veillez lire attentivement ces quelques pages d'information et posez toutes les questions que vous souhaitez à votre vétérinaire.

Si vous participez à cette étude, vous devez savoir que :

Le traitement administré à votre chien est en conformité avec les connaissances médicales actuelles.

Votre participation est volontaire et doit rester libre de toutes contraintes. Elle nécessite la signature d'un document exprimant votre consentement. Même après l'avoir signé, vous pouvez arrêter de participer en informant votre vétérinaire.

Il reste votre référent pour le suivi du traitement et pour répondre à toutes questions complémentaires ou inquiétudes.

Objectifs et déroulement de l'étude

Cette étude clinique est organisée pour optimiser la durée de traitement par la vitamine K1 nécessaire lors d'une intoxication par un raticide en fonction de la molécule responsable de l'intoxication. Elle a également pour objectif d'étudier l'éventuelle relation entre la concentration des raticides anticoagulants dans les fèces et le degré d'inhibition de la coagulation.

Cette étude clinique devrait inclure dans un premier temps au moins 20 chiens.

Pour pouvoir être inclus dans l'étude votre animal doit :

- Etre un chien mâle ou femelle, quel que soit son âge ou sa race.
- Avoir été exposé avec certitude ou présenter des symptômes caractéristiques d'une intoxication par un raticide anticoagulant.

Il ne doit pas :

- Avoir déjà pris l'antidote (la vitamine K1) avant le premier prélèvement plasmatique réalisé par le vétérinaire.

La participation à l'étude durera entre 3 et 5 semaines. Cette durée sera fonction de la vitesse de restauration des conditions physiologiques optimales de la coagulation.

Description des risques et bénéfices

Le traitement mis en œuvre et les procédures de diagnostic et de surveillance sont conformes aux bonnes pratiques médicales relatives à la prise en charge médicale des intoxications par les dérivés anticoagulants en l'état actuel des connaissances scientifiques. La participation de votre chien à cette étude n'engendre aucun risque supplémentaire et permet une médication optimale de cet accident toxicologique.

De même, vous ne devez pas vous attendre à des bénéfices personnels du fait de sa participation à l'étude. Sachez seulement que sa participation nous permettra de mieux définir les durées de traitement et donc de proposer une meilleure prise en charge à l'avenir.

Tous les frais de laboratoires ainsi que tous les envois des échantillons biologiques sont pris en charge par le responsable de l'étude. Seuls les frais de consultation et le traitement antidotique à base de vitamine K1 restent à votre charge financière.

Retrait de consentement

Votre participation est volontaire et vous avez le droit de retirer votre consentement à participer à l'étude pour quelque raison que ce soit, sans devoir vous justifier.

Contact

Si vous avez besoin d'informations complémentaires, mais aussi en cas de problème ou d'inquiétude, vous pouvez contacter votre vétérinaire ou le responsable de l'étude au 04.78.87.27.12.

2 Consentement éclairé pour le chien n° : PIR-___ __ _

Propriétaire du chien

Je déclare que j'ai été informé sur la nature de l'étude, son but, sa durée, les éventuels bénéfices et risques et ce que l'on attend de moi et de mon chien. J'ai pris connaissance du document d'information et des annexes à ce document. J'ai eu l'occasion de poser toutes les questions qui me sont venues à l'esprit et j'ai obtenu une réponse satisfaisante à mes questions par mon vétérinaire.

Je soussigné,..... ; atteste être le propriétaire de l'animal inclus dans l'étude.

J'accepte / n'accepte pas (biffer la mention inutile) que le responsable de l'étude fasse des analyses génétiques.

J'accepte / n'accepte pas (biffer la mention inutile) que les données de recherche récoltées pour les objectifs de la présente étude puissent être traitées ultérieurement.

J'accepte / n'accepte pas (biffer la mention inutile) d'être contacté par téléphone par une personne de l'étude pour me rappeler les dates de prélèvements des selles.

J'ai reçu une copie du formulaire de consentement éclairé et un cahier propriétaire.

Date et signature du propriétaire, précédée de la mention « lu et approuvée ».

Vétérinaire

Je soussigné, vétérinaire, confirme avoir fourni oralement les informations nécessaires sur l'étude et avoir fourni un exemplaire du document d'information au propriétaire.

Je confirme qu'aucune pression n'a été exercée pour que le propriétaire accepte de faire participer son chien à l'étude et que je suis prêt à répondre à toutes les questions supplémentaires, le cas échéant.

Date et signature du vétérinaire

3 Informations complémentaires

Coût associés à votre participation

Le promoteur n'a pas prévu de dédommager le vétérinaire pour le temps consacré à l'étude. Vous ne percevrez aucune indemnisation pour votre participation à cette étude. Par ailleurs, cette dernière n'entraînera pour vous aucun frais supplémentaire.

Garantie de confidentialité

Votre participation à l'étude signifie que vous acceptez que le vétérinaire recueille des données concernant votre chien et que le responsable de l'étude les utilise dans un objectif de recherche et dans le cadre de publications scientifiques et médicales.

Le vétérinaire a un devoir de confidentialité vis à vis des données collectées. Ceci veut dire qu'il s'engage non seulement à ne jamais divulguer votre nom dans le cadre d'une publication ou d'une conférence mais aussi que vos données seront codées.

Le responsable de l'étude utilisera les données collectées dans le cadre de l'étude à laquelle vous participez mais souhaite également pouvoir les utiliser dans le cadre d'autres recherches.

Si vous retirez votre consentement à participer à l'étude, afin de garantir la validité de la recherche, les données codées jusqu'au moment de votre interruption seront conservées.

 	Chien n° : PIR-00	N° code protocole. : PIR N° Version : 1 Page 1 sur 2
	FICHE D'INCLUSION	

FICHE D'INCLUSION

Vétérinaire :

Nom	
Adresse	
Téléphone	_ _ / _ _ / _ _ / _ _ / _ _
Mail	

Propriétaire :

Nom	
Adresse	
Téléphone	_ _ / _ _ / _ _ / _ _ / _ _
Mail	

Chien :

Sexe	Male <input type="checkbox"/>	Femelle <input type="checkbox"/>
Age	_ _ ans	
Race		
Poids	_ _ kilos	
Pathologies		

	Chien n° : PIR-00	N° code protocole. : PIR N° Version : 1 Page 2 sur 2
	FICHE D'INCLUSION	

Date d'inclusion dans l'étude : ___ / ___ / _____

Critères d'inclusion :

	Oui	Non
Etre un chien mâle ou femelle	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Avoir été probablement intoxiqué par un raticide	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- A été vu en train de manger l'AVK		
o Nom du raticide suspecté :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
o Délai entre l'exposition et l'inclusion dans l'étude: Heures	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- Présente des symptômes évocateurs d'une intoxication		
o Pâleur des muqueuses	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
o Saignements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
o Autres symptômes : (à préciser).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Le propriétaire du chien a signé le consentement éclairé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
N° d'inclusion : PIR-__		

Critère d'exclusion :

	Oui	Non
Le chien a t'il déjà reçu de la vitamine K1 avant le 1 ^{er} prélèvement sanguin ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	Chien n° : PIR-00	Code protocole. : PIR
	Cahier Propriétaire	N° Version : 1 Page 1 sur 8

Protocole : Etude du suivi des intoxications aux anticoagulants rodenticides chez le chien.

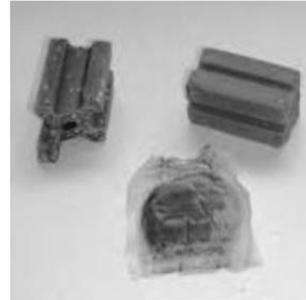
Vous avez accepté que votre chien participe à une étude clinique. Cette étude est observationnelle, aucun prélèvement ou acte pour votre chien n'est fait en plus de ceux qui sont faits dans la pratique courante. Les analyses biologiques ainsi que les frais d'envois des échantillons sont pris en charge par le responsable de l'étude.

Cette étude a pour objectif de définir la durée de traitement par la vitamine K1 nécessaire lors d'une intoxication par un raticide en fonction de la molécule responsable de l'intoxication. Le second objectif de cette étude est de voir s'il est possible de relier la concentration de raticides dans les selles avec l'état de la coagulation.

Qu'est-ce qu'un raticide anticoagulant ?

Les raticides anticoagulants, également appelés rodenticides antivitamine K, sont des produits phytosanitaires utilisés dans la lutte contre les rongeurs nuisibles (rats, souris, ...). Ils agissent en bloquant de façon indirecte le processus de coagulation.

En fonction de la classe des molécules (1^{ère} ou 2nd génération), les anticoagulants peuvent persister plus ou moins longtemps dans l'organisme (jusqu'à 8 semaines).



Conséquence d'une intoxication par des anticoagulants

L'arrêt du processus de coagulation entraîne des hémorragies à localisation variable dans l'organisme, plus ou moins visibles. Alors que les hémorragies externes sont faciles à détecter, les hémorragies internes, elles, ne peuvent être suspectées que par des signes généraux comme un état d'abattement de l'animal, une perte d'appétit, ...

Si ces hémorragies ne sont pas détectées suffisamment tôt, l'animal peut mourir en l'absence d'un traitement d'urgence entrepris par le vétérinaire. Ce traitement d'urgence peut nécessiter, l'hospitalisation de l'animal (perfusion, transfusion, ...).

Le traitement antidotique spécifique

Le traitement antidotique spécifique à base de vitamine K1 permet d'éviter cette issue fatale.

En fonction de l'état de votre animal, le vétérinaire peut initier le traitement par injection intraveineuse de vitamine K1. Une à deux injections espacées de 12 heures seront peut-être nécessaires. Vous devrez ensuite poursuivre le traitement par l'administration orale de vitamine K1 pendant 3 semaines minimum, selon la prescription de votre vétérinaire.

Importance du bon suivi du traitement

Le traitement à base de vitamine K1 ne garantit la guérison de votre animal **qu'à la seule condition qu'il soit parfaitement suivi**. Il est important de savoir que l'efficacité clinique du traitement avec la vitamine K1 donne l'impression que votre animal est guéri. Cependant, les molécules raticides persistent longtemps dans l'organisme et leur élimination peut prendre jusqu'à 8 semaines, voire plus. Aussi, un arrêt prématuré du traitement ou une modification de la posologie sans avis de votre vétérinaire peuvent s'avérer fatal pour votre animal, les rechutes étant généralement plus graves. Il est donc primordial de bien suivre la prescription vétérinaire. Pour vous aider, vous pouvez remplir le tableau suivant.

Jours	Date	Visite vétérinaire	Vitamine K1 à donner	Vitamine K1 donnée	Collecte fèces
0					X
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					X
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					X
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					X
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					X
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					

Sur le calendrier ci-contre, notez :

- O : dans la colonne « vitamine K1 à donner » ; les jours où la vitamine K1 doit-être donnée à votre chien.
- V : dans la colonne « visite vétérinaire », le jour du rendez-vous pour les visites de contrôle chez votre vétérinaire.
Attention la vitamine K1 doit-être arrêtée 2 jours avant les visites chez le vétérinaire.
- X : dans la colonne « vitamine K1 donnée », à chaque fois que vous avez administré le traitement à votre animal, pour ne pas oublier de prises.

L'efficacité de l'antidote est améliorée lorsqu'il est administré avec une petite quantité de lipides (beurre, graisse, ...). Vous pouvez donc administrer la vitamine K1 avec un repas riche en lipides ou avec une noisette de beurre.

Si vous avez indiqué vouloir être contacté le jour des collectes de selles, vous recevrez un appel téléphonique ou un sms pour vous rappeler la date de collecte.

Planning de l'étude

	Visite chez le vétérinaire	Collecte de féces	Collecte de féces	Collecte de féces	Collecte de féces		Visite chez le vétérinaire	Collecte de féces		Visite chez le vétérinaire
Visites	V1						V2			V3
Jours	J0	J0	J7	J14	J21	J21	J23	J28	J28 Ou J35	J30 ou J37

Voici le planning de l'étude auquel participe votre chien. Lors de cette étude, vous devrez collecter les selles de votre animal toutes les semaines jusqu'à la fin de son traitement.

Votre vétérinaire, vous a remis des kits pour effectuer ces prélèvements.

Ces kits contiennent :

- Des gants (pour ramasser les selles)
- Un pot blanc avec un couvercle
- Un sachet en plastique
- Un carton avec un bon Chronopost précollé avec l'adresse du laboratoire d'analyse

Les colis sont déjà affranchis, vous devez seulement les apporter à la Poste.

Prélèvement des selles :

- ① Collecter une selle de votre animal, avec le gant fourni.
- ② Retourner le gant et mettre le gant et la selle dans le pot blanc.
- ③ Fermer le couvercle et mettre le pot blanc dans le sachet en plastique. Fermer le sachet via la bande adhésive.
- ④ Ecrire la date sur le formulaire contenu dans le sachet plastique
- ⑤ Mettre le sachet plastique contenant le pot dans le carton
- ⑥ Apporter le colis à la Poste

Votre participation à cette étude apportera des renseignements précieux qui permettront dans un futur proche d'adapter la durée du traitement à la molécule raticide incriminée et éventuellement qui contribueront au développement d'un test de diagnostic d'une intoxication aux raticides à partir des fèces.

Contacts

Vétérinaire :

Tampon



Responsable de l'étude :

Damin Marlène

1 avenue Claude Bourgelat

69280 Marcy l'Etoile

Tel : 04.78.87.27.12

Mail : marlene.damin@vetagro-sup.fr

Annexe 5 : Tableau de résultats des chiens inclus

N° CN	V1			V2			V3			C1		C2		C3		C4		C5	
	TQ (s)	Dosage AVK		TQ (s)	Dosage AVK		TQ (s)	Dosage AVK		Dosage AVK		Dosage AVK		Dosage AVK		Dosage AVK			
		Molécule	Concentration (en ppb)		Molécule	Concentration (en ppb)		Molécule	Concentration (en ppb)	Molécule	Concentration (en ppb)	Molécule	Concentration (en ppb)	Molécule	Concentration (en ppb)	Molécule	Concentration (en ppb)	Molécule	Concentration (en ppb)
PIR-001 C	92	Chlorophacinone	75							Chlorophacinone	50	Chlorophacinone	134						
PIR-001 J	600	Chlorophacinone	600							Chlorophacinone	1356	Chlorophacinone	25						
PIR-002	>600	Dosage négatif		7,8	Dosage négatif					Brodifacoum	2900	Brodifacoum	539	Brodifacoum	62				
										Difenacoum	174	Difenacoum	44	Difenacoum	7				
										Bromadiolone	10,3								
PIR-003	/	Dosage négatif		6,6	Dosage négatif					Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-004	8,3	Dosage négatif		8,8	Dosage négatif					Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-005 Arka	7,5	Difenacoum	179,7	7,4	Difenacoum	1,6	7,3	Dosage négatif		Difenacoum	50	Difenacoum	50	Difenacoum	4	Difenacoum	85		
		Bromadiolone	3									Bromadiolone	Traces						
PIR-005 Arvie	7,5	Dosage négatif		7,4	Dosage négatif		7,1	Dosage négatif		Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-006	136,8	Difenacoum	270							Difenacoum	1522	Difenacoum	299	Difenacoum	22	Difenacoum	17		
		Chlorophacinone	5							Chlorophacinone	4								
		Brodifacoum	4							Brodifacoum	52							Brodifacoum	5,8
										Bromadiolone	1,7								
PIR-009	34	Difenacoum	212	6,6	Difenacoum	2				Difenacoum	1340	Difenacoum	125	Difenacoum	27	Difenacoum	15	Difenacoum	13
		Bromadiolone	5							Bromadiolone	98	Bromadiolone	23	Bromadiolone	<2				
PIR-010	>600	Coumatétralyl		287						Coumatétralyl	199								
PIR-012	8,2	Dosage négatif		8,2	Dosage négatif					Dosage négatif		Dosage négatif		Dosage négatif					
PIR-013	117	Coumatétralyl	76	7,2	Coumatétralyl	1,6				Coumatétralyl	65	Coumatétralyl	9						
		Diféthialone	5,8		Diféthialone	2,4				Diféthialone	52	Diféthialone	17						
PIR-014	>600	Coumatétralyl	164	7,6	Coumatétralyl	2,5				Coumatétralyl	366	Coumatétralyl	4	Coumatétralyl	2	Dosage négatif		Dosage négatif	
PIR-016	NI	Diféthialone	2	9	Dosage négatif					Diféthialone	0,8	Diféthialone	Traces	Diféthialone	Traces	Diféthialone	Traces		
PIR-023	114	Difenacoum	324							Difenacoum	2349	Difenacoum	70						
PIR-024 G	28	Dosage négatif								Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-024 M	26	Dosage négatif								Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-032	7,7	Dosage négatif								Dosage négatif		Dosage négatif							
PIR-035	53	Difenacoum	32,1	RA5						Difenacoum	500	Difenacoum	14	Difenacoum	10	Difenacoum	7		
PIR-041	88,5	Difenacoum	100	8	Dosage négatif					Difenacoum	500	Difenacoum	12	Difenacoum	8				
		Bromadiolone	50							Bromadiolone	400	Bromadiolone	2	Bromadiolone	4				
PIR-047	7	Difenacoum	18,5	9,3	Dosage négatif		10,2			Difenacoum	144	Difenacoum	28,3	Difenacoum	14	Difenacoum	6,2		
		Bromadiolone	8,4																
		Coumatétralyl	4,4							Coumatétralyl	3,3	Coumatétralyl	0						

/ : Non interprétable

DEJEAN Marine

ETUDE PHARMACOCINETIQUE ET PHARMACODYNAMIQUE DES INTOXICATIONS AUX ANTICOAGULANTS CHEZ LE CHIEN.

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 28 septembre 2018

RESUME :

A l'heure actuelle, la lutte contre les rongeurs passe majoritairement par l'utilisation de raticides anticoagulants. Ils sont divisés en deux classes : les premières et les secondes générations. Les molécules de seconde génération ont été mises sur le marché suite à l'apparition de résistances des rongeurs aux raticides mais elles présentent une toxicité forte pour les espèces non-cibles. La toxicité des secondes générations est grande et pose un réel problème.

Le diagnostic de ces intoxications est parfois difficile. La réalisation d'un temps de Quick permet d'orienter nos hypothèses mais le diagnostic de certitude passe par le dosage de l'anticoagulant dans le plasma ou dans le foie. Le traitement antidotique repose sur l'administration de vitamine K pendant plusieurs semaines suivant la molécule incriminée, ces données n'ont pas été validées par des études.

Nous avons mené une étude multicentrique sur 21 chiens pour lesquels un vétérinaire a suspecté une intoxication aux anticoagulants, 14 chiens s'avéraient réellement intoxiqués. Les secondes générations sont les raticides majoritairement impliqués dans notre étude. Nous avons montré que les fèces constituent la matrice la plus appropriée pour réaliser une analyse toxicologique et limite le risque de faux négatif, qui est fortement présent avec le plasma. De plus, le dosage des facteurs de coagulation met en évidence une diminution rapide de la concentration en facteurs VII et X lors d'intoxication. Enfin, l'étude des diastéréoisomères montre une élimination plus rapide de la forme trans du difénacoum chez le chien.

MOTS CLES :

- Intoxication
- Chiens
- Thérapeutique
- Antivitamines K

JURY :

Président : Monsieur le Professeur François MION

1er Assesseur : Monsieur le Professeur Etienne BENOIT

2ème Assesseur : Monsieur le Docteur Sébastien LEFEBVRE

Membre invité : Madame le Docteur Virginie LATTARD

DATE DE SOUTENANCE : 28 septembre 2018