

**CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2021 - Thèse n° 059

**PRINCIPALES CAUSES D'INTOXICATIONS LIÉES AUX  
ACTIVITÉS HUMAINES CHEZ LE MILAN ROYAL  
(MILVUS MILVUS) : ANALYSE DES DONNÉES DU  
LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE DE VETAGROSUP**

**THESE**

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

Et soutenue publiquement le 14 octobre 2021  
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

LOUSTE Eva



## LISTE DU CORPS ENSEIGNANT

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
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
BOULOCHE	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur émérite
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
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
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
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
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
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
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
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOSCA	Marion	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
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	Professeur
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	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
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



## REMERCIEMENTS

### **Au Professeur MION de l'UCBL de Lyon,**

Qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Hommage respectueux.

### **Au professeur Philippe Berny,**

Professeur en pharmacologie et toxicologie à VetAgroSup

Qui m'a fait l'honneur de diriger cette thèse,

Pour m'avoir fait confiance et confié ce projet,

Pour ses conseils avisés, sa gentillesse et sa disponibilité,

Ses conseils précieux sans laquelle cette thèse n'aurait pu voir le jour.

Mes sincères remerciements.

### **Au Docteur Magali René Martelet,**

Maître de conférences en parasitologie à VetAgroSup

Pour avoir accepté d'être mon assesseur,

Mais surtout pour m'avoir guidée sur la voie des Nacs tout au long de mon parcours à l'école vétérinaire,

Hommage respectueux et sincères remerciements



## TABLE DES MATIERES

Table des figures.....	11
Table des tableaux .....	13
Liste des abréviations.....	15
Introduction .....	17
PARTIE 1 : LE MILAN ROYAL EN FRANCE	
I. Le Milan Royal .....	19
1) Biologie de l'espèce.....	19
A) Apparence .....	19
B) Mode de vie.....	19
C) Site de nidification .....	20
D) Maturité sexuelle et reproduction .....	20
E) Alimentation .....	20
II. Acteurs de la protection du Milan royal en France.....	21
1) Ligue pour la Protection des oiseaux .....	21
2) Programme LIFE EuroKite.....	22
3) Réseau SAGIR .....	22
4) Laboratoire de toxicologie de VetAgroSup .....	22
III. Population de Milan en France et en Europe.....	23
1) Reproduction.....	23
2) Hivernage .....	24
I. Pesticides .....	29
A) Généralités .....	29
1) Définition .....	29
2) Réglementation .....	30
B) Intoxications par les polluants organiques non persistants.....	30
1) Organochlorés .....	31
2) Chloralose.....	32
• réglementation.....	32
• Utilisation en France et en Europe.....	32
• Exposition .....	32
• Métabolisme – Toxicocinétique .....	33
• Clinique.....	33
3) Insecticides Organophosphorés et carbamates .....	33

•	Réglementation .....	35
•	Propriétés physico-chimiques .....	35
•	Utilisation en France .....	35
•	Exposition .....	36
•	Métabolisme et Clinique .....	37
•	Détection .....	39
C.	Intoxication par les rodenticides anticoagulants .....	39
•	Chimie .....	40
1)	Différentes générations d'anticoagulants .....	40
•	Réglementation .....	41
•	Formulations .....	42
•	Application de rodenticides en France et en Europe .....	43
•	Métabolisme .....	44
•	Signes Cliniques .....	45
•	Exposition du Milan Royal .....	46
•	Perspectives de protection .....	48
II.	Les éléments traces métalliques .....	49
1)	Plomb .....	50
A.	Propriétés physico-chimiques et environnement .....	50
B.	Utilisation .....	50
C.	Réglementation .....	51
D.	Exposition .....	52
	Cadmium .....	58
I.	Matériel et Méthode .....	67
II.	Résultats .....	68
A.	Population d'étude .....	68
1.	Répartition temporelle .....	68
2.	Origine géographique .....	69
3.	Répartition des cas sur l'année .....	71
4.	Age et sexe .....	72
B.	Généralités sur les milans victimes d'intoxications .....	73
C.	Intoxications aux polluants organiques non persistants .....	75
1.	Prédisposition d'âge et de sexe .....	75
2.	Répartition géographique .....	76
3.	Répartition temporelle .....	77
4.	Lieux de découverte .....	78



5.	Signes cliniques.....	78
D.	Intoxications aux rodenticides anticoagulants.....	79
1.	Dose mesurée et intoxication.....	81
2.	Répartition spatiale des cas.....	83
3.	Répartition temporelle.....	84
4.	Signes cliniques.....	85
E.	Intoxication aux ETM.....	86
1.	Provenance géographique.....	87
2.	Répartition temporelle.....	87
3.	Mortalité.....	88
4.	Prédispositions de sexe.....	89
5.	Corrélation entre contamination rénale et hépatique.....	90
III.	Discussion.....	92
A.	Biais et limites de l'étude.....	92
B.	Pesticides.....	93
1.	Doses détectées et modes de contamination.....	93
2.	Signes cliniques.....	93
3.	Enjeux de protection.....	94
C.	Rodenticides.....	95
1.	Substances détectées et concentrations mesurées.....	95
2.	Exposition des Milans dans le temps et l'espace.....	97
3.	Estimation d'une concentration hépatique seuil.....	97
D.	Eléments traces métalliques.....	98
1.	Exposition en France.....	98
2.	Mortalité.....	99
3.	Prévalence de sexe.....	99
4.	Répartition du cadmium dans l'organisme.....	100
5.	Corrélation cadmium/plomb.....	100
	Conclusion.....	103
	Bibliographie.....	105



## TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des couples de Milans royaux nicheurs, saison 2019 [d'après 9*] .....	23
Figure 2 : nombre de Milans royaux hivernant en dortoirs recensés en France (2013-2020) [d'après 9*] .....	25
Figure 3 : Répartition des Milans hivernant en France d'après les comptages de dortoirs effectués par la LPO en janvier 2020 [49] .....	26
Figure 4 : Structure moléculaire de l' $\alpha$ -chloralose.....	32
Figure 6 : Structure d'un organo-phosphoré (gauche) et structure d'un carbamate (droite).	35
Figure 7 : structure moléculaire de l'hydroxy-4-coumarine .....	40
Figure 8 : structure moléculaire de l'1,3-Indanédione .....	40
Figure 9 : Métabolisme des molécules rodenticide anticoagulante et interférence avec le cycle de la VKOR .....	44
Figure 10 : répartition du nombre de milan reçus pour recherche de toxiques chaque année de l'étude (2013-2020).....	68
Figure 11 : départements de découverte des cent quarante-neuf milans royaux .....	69
Figure 12 : Lieux de découvertes des milans reçus pour analyse (période de reproduction à gauche, d'hivernage à droite) .....	70
Figure 13 : Répartition sur l'année des découvertes de cadavres .....	71
Figure 14 : Répartition des milans royaux reçus entre les différentes tranches d'âge .....	72
.....	73
Figure 15 : Milans mâles et femelles reçus pour analyse .....	73
Figure 16 : Cause de décès présumée des milans reçus pour analyse .....	74
Figure 17 : comparaison du nombre de milans victime d'intoxication par rapport aux autres causes de décès, dans le Nord et le Sud de la France. ....	74
Figure 18 : départements d'origine des Milans présentant une intoxication clinique au carbofuran.....	76
Figure 19 : Part de Milans positifs, négatifs et non testés pour les organophosphorés et carbamates dans le Nord-Est de la France et les Pyrénées. ....	77
Figure 20 : nombre de rapaces positifs par rapport au nombre total de Milans dépistés entre 2013 et 2020.....	77
Figure 21 : Nombre d'occurrence pour chaque anti-coagulant entre 2013 et 2020.....	80
Figure 22 : Nombre d'occurrences pour chaque rodenticide anti-coagulant entre 2013 et 2020.....	81
Figure 23 : nombre de milans négatifs, faiblement positifs, moyennement positifs et fortement positifs aux anticoagulants entre 2013 et 2020 .....	82
Figure 24 : Représentation « box plot » des doses de rodenticides mesurées chez les Milans entre 2013 et 2020.....	83
Figure 25 : Répartition des cas positifs aux anticoagulants rodenticides par département ...	83
Figure 26 : Représentation en « boxplot » des traces d'anticoagulants retrouvés chez les Milans dans le Sud (1 ; n=25) et le reste de la France (2 ; n=9) .....	84

Figure 27 : nombre de milans négatifs, faiblement positifs, moyennement positifs et fortement positifs aux anticoagulants selon les saisons.....	85
Figure 28 : récapitulatif du nombre total d'hémorragies rapportées pour chaque groupe de Milan.....	86
Figure 29 : Quantité de plomb hépatique en $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de matière sèche chez les milans reçus entre 2013 et 2020 (les valeurs supérieures à $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ sont hors échelle), $3 < n < 11$ selon les années .....	87
Figure 30 : Quantité de cadmium rénal en $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de matière sèche chez les milans reçus entre 2013 et 2020.....	88
Figure 31 : représentation « boxplot » des doses de plomb mesurées dans le foie des femelles (1 ; n=21) et mâles (2 ; n=16).....	89
Figure 32 : représentation « boxplot » des doses de cadmium mesurées dans le rein des femelles (F ; n=18) et mâles (M ; n=14) .....	90
Figure 33 : rapport entre le plomb rénal (y) et le plomb hépatique (x), valeurs extrêmes exclues.....	90
Figure 34 : rapport entre le cadmium rénal (y) et le cadmium hépatique (x) .....	91
Figure 35 : corrélation entre les taux de plomb et de cadmium rénal .....	92

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : nombre de Milans royaux hivernant en dortoirs recensés en France (2013-2020) [49] .....	24
Tableau II : Principales familles de pesticides retrouvés chez les milans et leur utilisation....	31
Tableau III : Effets de l'inhibition de l'AcétylcholineEstérase (AchE).....	38
Tableau IV : Récapitulatifs des différentes générations des molécules utilisées et de leurs principales propriétés .....	41
Tableau V : Comparaison des temps de demi-vie des différentes molécules dans le foie des souris .....	41
Tableau VI : DL50 (mg/kg) orale expérimentale chez le rat et la souris .....	45
<u>Tableau VII : métaux, métalloïdes et leurs abréviations</u> .....	50
Tableau VIII Seuils suggérés d'interprétation de la concentration en plomb des tissus chez les falconiformes [d'après 87*] .....	56
Tableau IX : lieu de découvertes des Milans positifs aux organophosphorés ou aux carbamates.....	78
Tableau X : Nombre d'occurrence des différentes lésions autopsiques rapportées.....	79
Tableau XI : récapitulatifs des signes cliniques et lésions d'autopsies (en %) mentionnées avec les cadavres reçus pour recherche d'anticoagulants, selon les groupes pré-établis. ....	86



## LISTE DES ABREVIATIONS

AchE : Acétylcholinestérase

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ALAD : acide delta amino-levulinique

ALAS : acide amino-levulinique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire Nationale

ARN : Acide Ribonucléique

AVK : Anti-Vitamine K

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

EChA : European Chemical Agency

ETM : Elément trace métallique

FAO : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

LPO : Ligue pour la protection des Oiseaux

OFB : Office Français de la Biodiversité

ONCFS : Office National pour la Chasse et la Faune Sauvage

OP : Organophosphorés

OVS : Organisme à Vocation Sanitaire

PCB : Polychlorobiphényle

pH : potentiel hydrogène

VKOR : Vitamine K epoxyde reductase

VLB : Valeur Limite Biologique





## INTRODUCTION

Rapace endémique d'Europe, le Milan royal a vu sa population décliner au cours des dernières décennies. En France dès 1980, la surface de maïs cultivée augmente fortement au détriment des prairies et pâtures qui constituaient les principaux lieux de nidification et de chasse du Milan royal.

Les individus migrent dans toute l'Europe ; nichent en Allemagne et dans le nord de la France, hivernent de l'Auvergne au Sud de l'Espagne. Là où il y a vingt ans, le Milan royal était un rapace commun, c'est aujourd'hui une espèce protégée menacée pour laquelle de nombreux acteurs se mobilisent autour de différents projets de sauvegarde.

A l'origine de ce déclin, la destruction de son habitat naturel, mais également des persécutions volontaires (tirs) dont le nombre est néanmoins en nette diminution depuis 1970. Les collisions avec des voitures, des bâtiments, des vitres ou des éoliennes sont également des facteurs de mortalités à prendre en compte. De plus, le Milan royal est l'un des rapaces français les plus souvent victime d'intoxication.

L'objectif de ce travail est de synthétiser et de regrouper les principales molécules toxiques incriminées lors d'intoxication chez le Milan royal en France. Dans un premier temps, les molécules les plus fréquemment retrouvées seront présentées, ainsi que leurs propriétés et leurs modes d'action.

Dans une seconde partie, les résultats d'analyse toxicologiques réalisées sur l'ensemble des Milans reçus au laboratoire de toxicologie seront présentés et discutés, afin de comprendre quels sont les enjeux actuels à considérer pour la protection de l'espèce.



## I. LE MILAN ROYAL

### 1) BIOLOGIE DE L'ESPECE

#### A) APPARENCE

Le Milan royal est un grand rapace diurne, avec une envergure pouvant atteindre 165 cm. Il existe un léger dimorphisme sexuel, les femelles étant plus grandes que les mâles avec un poids pouvant aller jusqu'à mille trois cents grammes contre neuf cent cinquante grammes en moyenne pour les mâles.

Mâles et femelles arborent un plumage brun-roux et une tête grisâtre, finement striée. La base du bec, le tour des yeux et les pattes sont jaunes.

En vol, il est facilement reconnaissable à sa queue rousse triangulaire et fourchue. La face interne des ailes est large, noire et pourvue d'une tache blanche.

Le juvénile a des couleurs beaucoup moins marquées. Les couvertures alaires sont plus pâles, blanchâtres. La tête est moins grise, plus sombre dessus et le dessus de la queue d'un roux moins vif que l'adulte. Les plumages immatures sont intermédiaires. [90]

#### B) MODE DE VIE

Le milan royal est endémique de l'Europe. Bien qu'il ne s'agisse pas d'une espèce migratrice, certains individus hivernent et se reproduisent dans des régions différentes.

En Auvergne et dans le sud de la France, il semblerait que les populations hivernent sur place tant que les conditions climatiques ne sont pas trop rudes. Dans les régions plus au nord, les rapaces reviennent nicher à partir de février. En hiver, les milans constituent des « dortoirs » regroupant plusieurs individus pour la recherche de nourriture. Les couples sont généralement fidèles d'une saison de reproduction à l'autre.

En France, la ponte a lieu entre le 20 mars et le 15 avril, avec peu de variations d'une région à l'autre, à l'exception de la Corse où les populations se reproduisent avec près de 15 jours d'avance sur le reste du pays.

L'incubation dure 33 jours, et l'éclosion est asynchrone. Pendant les quinze premiers jours de vie des poussins, la femelle reste au nid en permanence, puis elle participe avec le mâle à la recherche de nourriture pour la portée.

Les juvéniles commencent à s'exercer au vol autour du nid aux alentours du mois de juin, et l'émancipation, variable, a lieu entre les mois de juillet et d'août, avant le départ pour les sites d'hivernage.

#### C) SITE DE NIDIFICATION

Le Milan royal est strictement arboricole, cependant il peut s'adapter à de nombreuses essences d'arbre pour la construction de son nid. Celui-ci doit rester facilement accessible pour ces oiseaux de grande envergure, de même qu'abrité des intempéries (vent, pluie, exposition directe au soleil), ce qui semble expliquer que la majorité des nids soient retrouvés sur des côtes orientés de Est/Sud-Est.

Bien que les zones boisées, les prairies ouvertes et les zones de cultures semblent être les zones de prédilection du Milan royal, on retrouve le Milan royal dans les zones humides, en lisière de forêt ou en région montagneuse, pourvu que de grands arbres soient présents pour accueillir les sites de nidification.

En Espagne, des auteurs ont décrit le milieu de vie idéal du Milan royal comme une plaine ouverte avec de petits bosquets, ou des arbres isolés où ils peuvent nicher. Les forêts, hautes montagnes ou milieux arides ne sont pas adaptés à l'espèce. [7]

#### D) MATURITE SEXUELLE ET REPRODUCTION

Le marquage en France semble confirmer que le Milan se reproduit pour la première fois vers l'âge de deux ou trois ans, avec une tendance très forte à se reproduire à moins de dix kilomètres du lieu où ils sont nés. [75]

Très exceptionnellement, des couples mixtes Milan royal X Milan noir ont été observés, comme en Touraine en 2019 [89], une hybridation entre ces deux espèces est par ailleurs possible et a déjà été observée.

#### E) ALIMENTATION

Le Milan royal est avant tout un opportuniste et son régime alimentaire est très variable d'une région, et d'une saison à l'autre.

En l'abondance de petits mammifères comme les lapins ou les campagnols, ceux-ci peuvent représenter jusqu'à 80% du régime alimentaire du Milan royal [4\*]

Ainsi, dans les années 90, une augmentation significative de la population de milans a été observée en Corse, alors que les milans étaient en déclin dans tout le reste de la

méditerranée, ce qui pourrait être en lien avec l'importante population de lapins, introduite dans les années 70 [56]

Au moment de l'étude La densité de nidification est supérieure en Corse, ce qui pourrait être dû à l'abondance de lapin (67 à 77% des restes trouvés dans les nids, données non publiées) contre 39% du régime en 1989, le reste étant principalement constitué de carcasses de bétail laissées à l'abandon [56]

Un très grand nombre de petits mammifères, oiseaux, poissons, vers, insectes, charognes diverses, peuvent faire partie du régime alimentaire du Milan royal. Il a même été fait -très rarement- mention d'épisodes de prédation sur des animaux de compagnie ou encore de vol de nourriture sur le rebord des fenêtres.

L'analyse du régime alimentaire des milans dans une région donnée s'effectue traditionnellement par l'analyse du matériel compris dans les pelotes de réjection ramassées sous les dortoirs d'hivernage, ou bien par l'examen des restes alimentaires présents dans le nid en période de reproduction. Néanmoins, cette méthode doit être considérée avec prudence : là où les ossements de mammifères, oiseaux, reptiles, sont bien conservés et identifiés, la chitine des insectes est plus difficile à mettre en évidence, ainsi que les restes de vers, mollusques... Les chiffres obtenus sont donc probablement biaisés en faveur des vertébrés.

Dans le sud de l'Europe, où ils hivernent, les milans sont observés autour des « muladare », carcasses de bétail laissées à disposition des rapaces et charognards, de plus en plus rares depuis la crise de l'encéphalite spongiforme bovine en 2002. Il apparaît que si les « muladare » sont des points d'alimentation des milans en hiver, en revanche les oiseaux y ont peu recours en période de nidification [7]

## II. ACTEURS DE LA PROTECTION DU MILAN ROYAL EN FRANCE

### 1) LIGUE POUR LA PROTECTION DES OISEAUX

Fondée en 1912, la Ligue pour la Protection des Oiseaux agit en France pour la conservation des oiseaux, mammifères, reptiles, et de la biodiversité en général. Elle est le représentant Français de BirdLife International et coordonne des études de terrain sur de nombreuses espèces, dont le Milan royal.

En 1972, la LPO fonde la « mission rapace » et agit en faveur de nombreuses espèces. Chaque année, les couples de Milan royal sont recensés en période de nidification et d'hivernage, et les résultats publiés annuellement dans le *Milan Info*. [87]

## 2) PROGRAMME LIFE EUROKITE

Le programme LIFE est un instrument financier de la Commission européenne entièrement dédié à soutenir des projets dans les domaines de l'environnement et du climat. La période actuelle de financement (2014-2020) est dotée d'un budget de 3,4 milliards d'euros.

Le programme LIFE a débuté en 1992 et a cofinancé à ce jour plus de 5 400 projets.

Le projet LIFE Eurokite finance la pose de balise Argos (GPS) sur plusieurs centaines d'individus, ce qui permet d'étudier leurs déplacements, mode de vie et d'améliorer les mesures prises pour la conservation de l'espèce.

## 3) RESEAU SAGIR

Fondé en 1955, le réseau SAGIR rassemble les fédérations des chasseurs et l'Office Français de la biodiversité (OFB), en partenariat avec la LPO. Sa mission principale est la surveillance des événements infectieux et des causes de morbidité chez la faune terrestre (mammifères et oiseaux), assurant ainsi une veille sanitaire de la faune sauvage en France [85]

Les animaux découverts morts ou malades par le réseau d'observateurs de terrain sont pris en charge et des analyses sont réalisées par les laboratoires départementaux ou par d'autres laboratoires spécialisés, afin de :

- Surveiller l'émergence de maladies infectieuses potentiellement zoonotiques
- Monitorer l'impact involontaire des biocides sur la faune sauvage

## 4) LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE DE VETAGROSUP

Le laboratoire de Toxicologie de VetAgroSup fait partie du réseau SAGIR. Chaque fois, des échantillons de tissus sont acheminés au laboratoire pour des analyses toxicologiques lors de suspicion d'intoxications, dont de nombreux Milans royaux. [5]

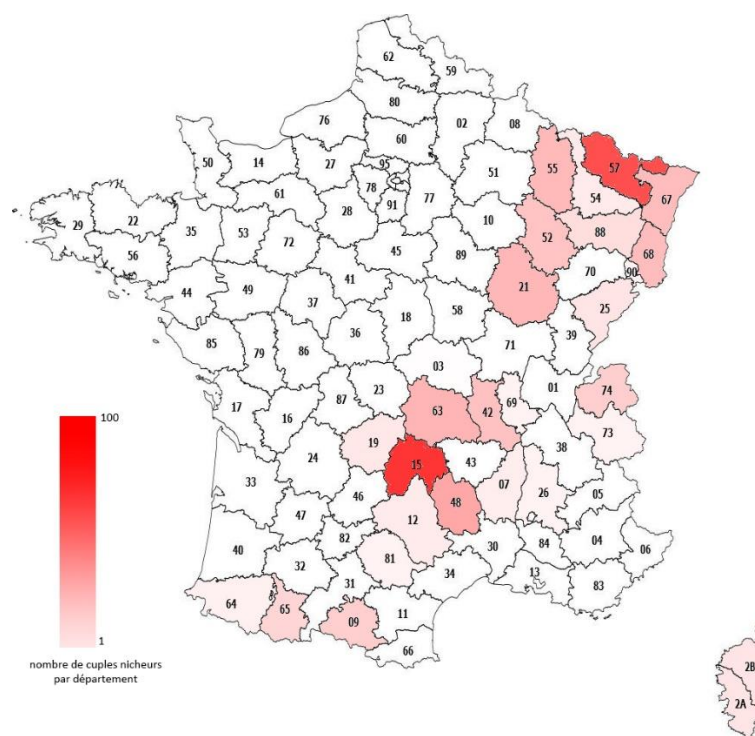
### III. POPULATION DE MILAN EN FRANCE ET EN EUROPE

Espèce endémique de l'Union Européenne (à l'exception de quelques rares individus qui hivernent au nord de l'Afrique), la population de Milan royal de l'UE-27 est estimée à 24 000-31 900 couples, le plus gros de la population se trouvant en Allemagne (12 000-18 000 couples), en Espagne (3 810-4 150 couples) et en France (2 335-3 022 couples). La population hivernante du Milan royal est de 38 100-42 200 individus dans les 27 Etats membres.

Selon le rapport de l'article 12 (2008-2012), le statut de la population de *Milvus milvus* dans l'UE a été évalué comme « Quasi menacé ». En Europe, les tendances de populations sont plutôt à la baisse sur les trois dernières décennies dans le monde (BirdLife International 2021).

#### 1) REPRODUCTION

D'après les comptages de la LPO, publiés chaque année dans le bulletin Milan Info, En 2019, 519 couples nicheurs et 402 couples producteurs ont été recensés de France. Le nombre de jeunes à l'envol (656) est un record qui n'avait pas été atteint depuis 2015.



**Figure 1 : Répartition des couples de Milans royaux nicheurs, saison 2019 [d'après 9\*]**

Au printemps et en été, les Milans royaux se retrouvent principalement sur deux régions : Grand-Est et Massif central. Une vingtaine de couples sont également dénombrés dans les Pyrénées.

Ces chiffres sont à nuancer. En dépit de l'investissement de nombreux bénévoles, les départements où le Milan royal n'est pas habituellement observé ne sont peu ou pas prospectés. De même, les observations dans chaque département sont tributaires des conditions météorologiques et du nombre de bénévoles disponibles.

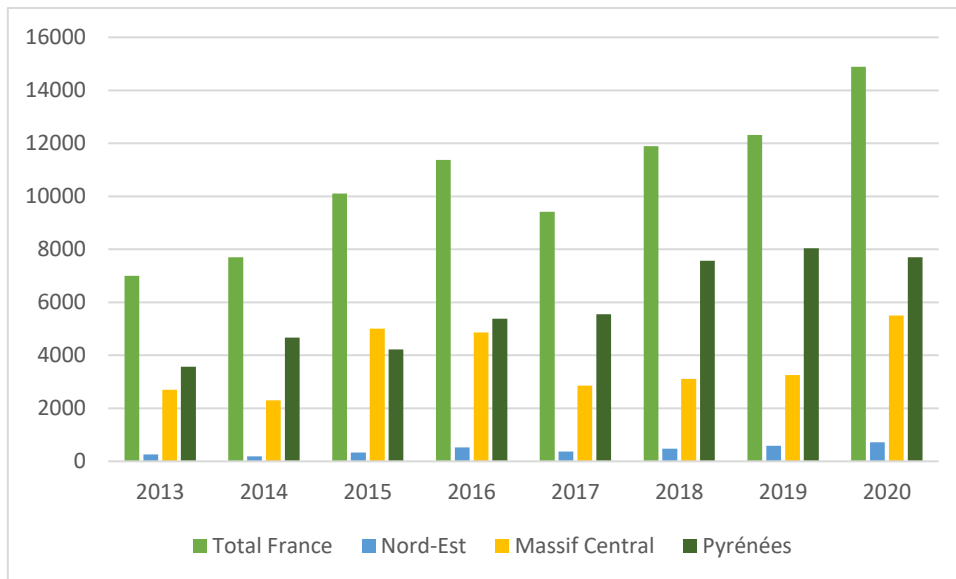
## 2) HIVERNAGE

La majorité des Milans royaux hivernent plus au Sud que leur aire de reproduction. Certains individus nichant en France hivernent en Espagne, et les couples se reproduisant en France hivernent dans le Sud de la France ou en Espagne.

*Tableau 1 : nombre de Milans royaux hivernant en dortoirs recensés en France (2013-2020) [49]*

	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Total France	6995	7703	10103	11376	9411	11891	12313	14887
Nord-Est	258	181	328	525	372	475	582	720
Massif Central	2697	2300	5002	4863	2862	3109	3251	5497
Pyrénées	3568	4669	4224	5384	5551	7567	8037	7705
Autres		553	549	604	626	740	503	565

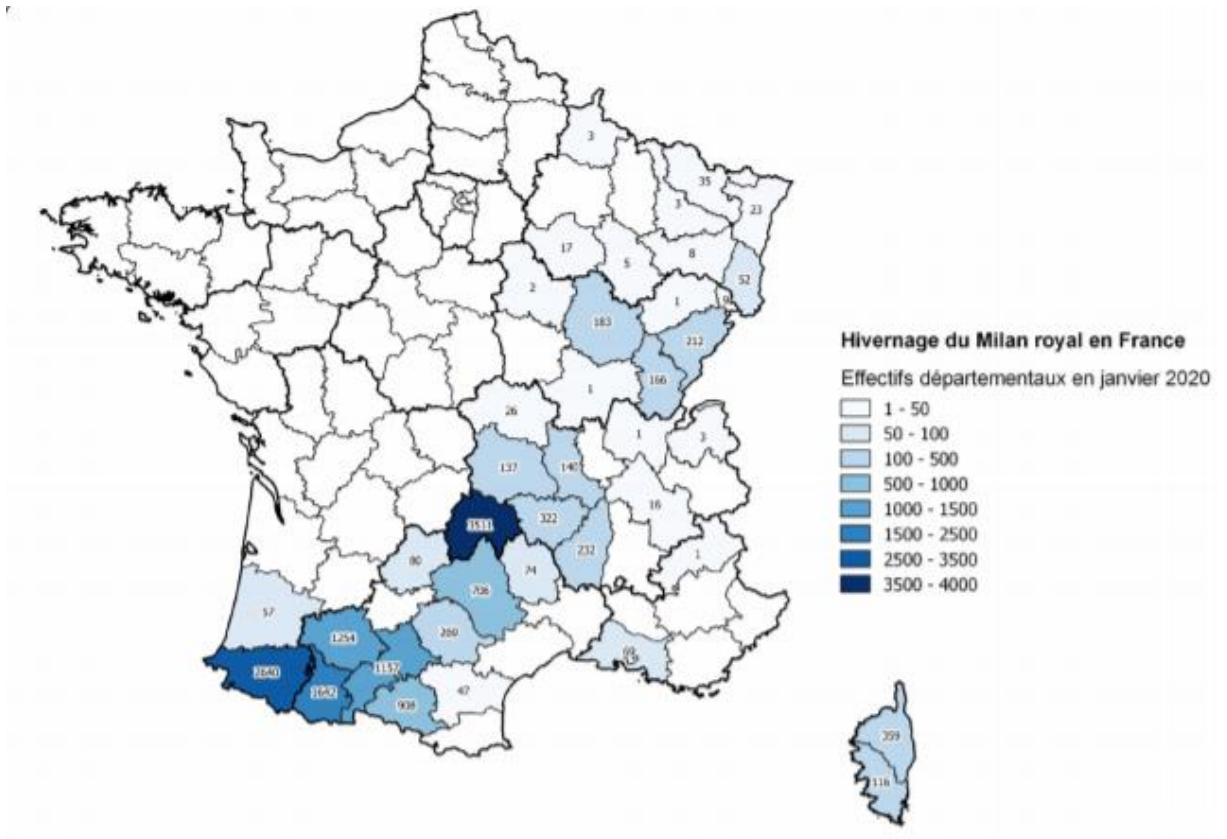




**Figure 2 : nombre de Milans royaux hivernant en dortoirs recensés en France (2013-2020) [d'après 9\*]**

D'après les bulletins de météo France, les hivers 2013 à 2020 ont été relativement doux, et donc favorables à la formation de dortoirs de milans hivernant en France. De plus, les hivers 2015 et 2016 la convergence de plusieurs facteurs (températures clémentes, explosion de la population de campagnols) peut expliquer l'augmentation du nombre de Milans royaux hivernant en dortoirs ces années en particulier [49]

De plus, le financement de plusieurs balises Argos par le programme LIFE Eurokite a permis de découvrir d'autres dortoirs en France, augmentant chaque années le nombre de lieux prospectés.



**Figure 3 : Répartition des Milans hivernant en France d'après les comptages de dortoirs effectués par la LPO en janvier 2020 [49]**

## PARTIE 2 : APPROCHE BIBLIOGRAPHIQUE DES TOXIQUES RETROUVES CHEZ LE MILAN ROYAL



# I. PESTICIDES

## A) GENERALITES

### 1) DEFINITION

Un pesticide est un terme général pour désigner une substance employée dans la lutte contre les espèces (animaux, végétaux, bactéries et champignons) que l'homme considère comme nuisible à ses activités. La définition de la FAO (Food and Agriculture Organization) des nations unies inclut les produits « qui peuvent être administrés aux animaux pour lutter contre les endo et ectoparasites, ainsi que les substances destinées à être utilisées comme régulateur de croissance des plantes, comme défoliant, comme agent de dessiccation, comme agent d'éclaircissage des fruits ou pour empêcher la chute prématurée de ceux-ci, ainsi que les substances appliquées sur les cultures, avant ou après la récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport ».

C'est donc une définition très large, dans laquelle les produits couramment utilisés sont divisés en quatre catégories qui dépendent de leur composition et de leur utilisation : les produits phytopharmaceutiques, les biocides, les médicaments vétérinaires et les médicaments à usage humain. Ces définitions ont pour intérêt d'harmoniser la réglementation entre pays européens, mais certaines molécules peuvent dépendre de plusieurs réglementations. Par exemple la perméthrine, interdite d'utilisation en Europe en tant que produit phytosanitaire, mais dont la vente est possible en tant que médicament antiparasitaire externe pour les animaux.

Par la suite, nous nous intéresseront uniquement aux produits phytopharmaceutiques et biocides, car les milans ne sont que peu voire pas concernés par les intoxications aux médicaments vétérinaires et humains. [34]

Produit phytopharmaceutique (synonyme de « produit phytosanitaire ») : la définition officielle est donnée par l'article 3 du règlement (CE) n°1107/2009, reprise dans l'article L 253-1 du code rural : produits destinés à protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles, assurer leur conservation, et détruire les végétaux indésirables. Cela inclut donc herbicides, fongicides, insecticides, acaricides ... ainsi que les stimulateurs de défenses des plantes et les médiateurs chimiques. [81]

Biocides : Les produits biocides sont définis par la Directive 98/8/CE10 du Parlement européen et du Conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides. L'article 2 définit les produits biocides ainsi : « Substances actives et préparations contenant une ou plusieurs substances actives [...], destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique. [34]

## 2) REGLEMENTATION

Régie depuis 1993 par la directive européenne 91/414/CEE, l'évaluation des produits et substances phytopharmaceutiques a évolué en juin 2011 avec l'entrée en vigueur du règlement (CE) N°1107/2009, qui fait partie du « paquet pesticide »

Initialement réglementés par la directive 98/8/CE10 du parlement européen, les biocides sont réglementés par le règlement européen (CE) n°528/2010 concernant la mise sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

Les réglementations spécifiques à chaque famille de molécules seront évoquées dans les parties suivantes

## B) INTOXICATIONS PAR LES POLLUANTS ORGANIQUES NON PERSISTANTS

Différents polluants organiques non persistants peuvent être à l'origine de l'intoxications de milans royaux en France, parmi lesquels les organophosphorés et carbamates, les pyréthriinoïdes, les néonicotinoïdes et le fipronil. Dans cette partie nous nous concentrerons uniquement sur les organophosphorés et carbamates, les autres molécules, bien qu'elles fassent l'objet d'analyses régulières, n'ont jamais été détectées chez les Milans royaux reçus au laboratoire.

Tableau II : Principales familles de pesticides retrouvés chez les milans et leur utilisation

Famille chimique	Exemple de substance active	Classement selon cible
Organochlorés	DDT, Chlordane, Lindane, Dieldrine, Heptachlore	Insecticides
Organophosphorés	Malathion, Parathion, Chlorpyrifos, Diazinon	Insecticides
Pyréthroïdes	Perméthrine, Deltaméthrine	Insecticides
Carbamates	Aldicarbe, Carbaryl, Carbofuran, Méthomy	Insecticides
	Asulame, Diallylate, Terbutcarbe, Triallylate	Herbicides
	Benthiavalarbe	Fongicide

#### 1) ORGANOCHLORES

Un composé organochloré est un composé organique de synthèse, constitué d'au minimum un atome de chlore et employé comme fongicide, pesticide, insecticide ou solvant de synthèse en chimie et pharmacie. C'est une des premières familles de molécules à avoir été utilisée massivement en tant qu'insecticide, et c'est également la plus persistante dans l'environnement

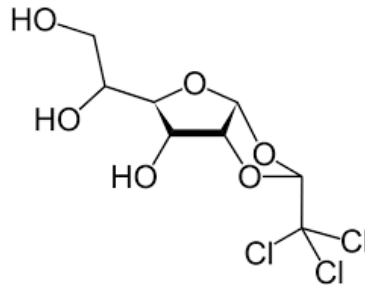
Les plus connus sont les pesticides (DDT, aldrine, kepone, dieldrine, chlordane, heptachlore, endrine, mirex, BPC, toxaphène, lindane, etc.) et les PCB.

Préoccupation majeure de la santé publique mondiale depuis la moitié du XX<sup>e</sup> siècle en raison de leur haute toxicité, le DDT est interdit en France depuis 1971 et la dieldrine depuis 1974.

Après avoir longtemps représenté la principale menace toxique sur les rapaces, aujourd'hui, ce sont des composés peu retrouvés dans la chaîne alimentaire, probablement car leur interdiction d'utilisation date déjà de plusieurs dizaines d'années, en revanche il peut arriver que d'anciens stocks soient utilisés à des fins d'empoisonnement malveillante (Lindane...), mais cela reste extrêmement rare [19]\*]

## 2) CHLORALOSE

Le chloralose est un composé organique chloré qui résulte de la condensation du chloral et



du glucose. Seul l'isomère  $\alpha$  est toxique.

**Figure 4 : Structure moléculaire de l' $\alpha$ -chloralose**

- *REGLEMENTATION*

Composé toxique, l' $\alpha$ -chloralose est aujourd'hui interdit d'utilisation en Europe dans la plupart de ses formulations.

En France les différentes formulations ont été retirées du marché en février 2013 et l'utilisation du chloralose comme pesticide est interdite depuis août 2013 [91], à l'exception des souricides vendus dans le commerce sous forme d'appâts à 4% de principe actif.

- *UTILISATION EN FRANCE ET EN EUROPE*

Initialement employé dans l'industrie pharmaceutique comme somnifère jusqu'à la fin des années 1980, le chloralose a été retiré du marché car considéré comme peu sécuritaire.

Les formulations commerciales du chloralose ont été vendues à des fins biocides pour la lutte contre les corvidés (corbeaux, corneilles, pies) avec des appâts à une concentration maximale de 5%, ou bien en tant que rodenticides, avec des concentrations allant jusqu'à 15%. Il était également possible de fabriquer ses propres appât à partir de poudre à 99% [33]. Seul l'usage souricide sous forme d'appâts prêts à l'emploi à 4% est désormais autorisée.

- *EXPOSITION*

La DL50 du chloralose est plus importante chez le rat (160 à 400 mg/kg) contre 50 mg/kg chez la plupart des oiseaux, à l'exception des corvidés qui y sont très résistants [33]



Des appâts à base de chloralose ont été retrouvés en Italie, cependant la molécule reste peu utilisée à des fins malveillantes (seulement 2,2% des appâts utilisant un rodenticide ont été élaborés avec de l' $\alpha$ -chloralose contre 78,5% avec des rodenticides anti-coagulants et 13,3% avec de la strychnine dans cette étude) [10]

- *METABOLISME – TOXICOCINETIQUE*

L'absorption du chloralose par voie orale est rapide et de l'ordre de 100%. La molécule se répartit ensuite dans l'organisme et se distribue dans les reins, le foie, où elle est hydrolysée en chloral, puis réduite en trichlorethanol, un métabolite dépresseur du système nerveux central [96][25]

Bien que son mécanisme d'action ne soit pas complètement élucidé, on sait que le chloralose a une action dose-dépendante sur le système nerveux central qui est à la fois excitatrice et inhibitrice : il est excitateur à faible dose, et dépresseur à dose plus importante.

L'excrétion est urinaire après métabolisation hépatique.

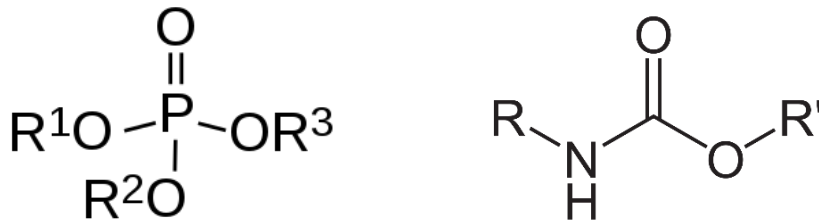
- *CLINIQUE*

Les signes cliniques suivant une ingestion d' $\alpha$ -chloralose varient avec la dose absorbée. L'animal intoxiqué peut manifester des troubles neurologiques variés, allant des convulsions systémiques généralisées au coma et à la mort. D'autres signes décrits incluent une ataxie, un nystagmus, une amaurose, de l'agressivité, de l'hypersalivation, des signes gastro-intestinaux. L'hypothermie est également fréquente après une intoxication à l' $\alpha$ -chloralose. [96], [25]

### 3) INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES ET CARBAMATES

Un organophosphoré est un composé organique constitué au minimum d'un atome de phosphore. Les organophosphorés ont fait leur apparition au cours de la seconde guerre mondiale, alors utilisé comme gaz de combat. Aujourd'hui, ils sont mondialement utilisés en agriculture pour leurs propriétés insecticides, et ont largement remplacé les organochlorés : leur production a décuplé entre 1975 et 1985 [95]

Les insecticides carbamates, qui diffèrent des OP en termes de structure mais ont un mode d'action identique, sont des esters de l'acide carbamiques



**Figure 6 : Structure d'un organo-phosphoré (gauche) et structure d'un carbamate (droite)**

- *REGLEMENTATION*

Les évolutions réglementaires des dernières décennies, notamment en termes de seuils de contamination acceptables chez l'homme, ont abouti en 2003 au retrait d'une trentaine de molécules, soit pour leur toxicité, soit simplement en raison du manque de rentabilité induit par les nouvelles études nécessaires pour rester sur le marché [95]

En raison de leur toxicité, plusieurs carbamates, dont l'aldicarbe, le carbofuran et le carbosulfan sont totalement interdits d'utilisation en Europe depuis 2008.

- *PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES*

Les OP ont une faible rémanence dans l'environnement : instables, ils sont rapidement hydrolysés sur le sol ou à la surface des plantes. Le risque de contamination de l'eau potable et/ou des aliments par des résidus est faible.

- *UTILISATION EN FRANCE*

Les OP sont principalement utilisés dans l'agriculture pour la lutte contre les insectes, les vers, et dans une moindre mesure les acariens (des résistances sont apparues chez ces derniers). Les carbamates sont utilisés dans la lutte contre les pucerons, acariens et nématodes.

Vingt molécules organophosphorées en France possèdent une AMM pour le traitement des végétaux (arbres, fruits, céréales, plantes d'ornement...) [95] contre une dizaine de carbamates. Aujourd'hui, les carbamates anticholinestérasiques ont pratiquement disparu des insecticides à usages ménager, remplacés par les pyréthrinoïdes ou d'autres substances.

- *EXPOSITION*

Une exposition environnementale directe est en théorie possible pour les rapaces, par exemple présence au sol dans un champ lors d'un épandage aérien de pesticides, mais n'a jamais été rapportée en réalité. De plus, les milans ne nichent jamais au sol (au contraire de certains busards par exemple), ce qui place les poussins hors de portée des pulvérisations directes.

Il existe une bioaccumulation de certains pesticides dans la chaîne alimentaire. Une étude a montré que des crécerelles d'Amérique (*Falco Sparvierus*) prédataient plus aisément des moineaux exposés expérimentalement à du fenthion. Cela peut s'expliquer par le fait que les proies intoxiquées sont moins agiles et susceptibles d'échapper au prédateur [3] Cependant ce phénomène est peu investigué, et ses conséquences peu connues.

Aux États-Unis, il est suggéré que les animaux présents à proximité immédiate des champs en période d'épandage de carbamates peuvent être victimes d'intoxication : le phénomène a été observé en particulier chez les passereaux, mais également chez des oiseaux de plus grande taille, amphibiens, reptiles et petits mammifères [50]

En 1995 en Suisse, il a été observé qu'après l'ensemencement de plantations de fourrage et de canne à sucre, des cadavres de buse variable (*Buteo buteo*), milan royal et milan noir (*Milvus migrans*) étaient retrouvés à proximité. Or en 1995, les plantations fraîchement semées étaient traitées à l'aide de carbofuran [19] Une étude réalisée en parallèle sur la mortalité des vers de terre (*Lumbricus terrestris*) [35] révèle que la quantité de produit retrouvée chez les vers de terre dans les jours qui suivent l'épandage de billes de carbofuran varie avec la météo (plus importante les jours de pluie) et que la mort rapide des lombrics laisse un grand nombre de cadavres à la surface du champ, ou à moins de cinq centimètres sous la terre, les rendant aisément consommables par des prédateurs opportunistes tels que les milans ou les buses.

La confirmation de l'exposition des rapaces trouvés morts à des vers de terre (ou possiblement d'autres invertébrés) contaminés se vérifie par la présence de carbofuran

dosable dans le gésier des cadavres, en plus de chitine de lombrics. Cependant les doses retrouvées dans les gésiers de rapaces morts sont supérieures aux doses attendues en prenant en compte la quantité retrouvées dans les lombrics morts à la même période, ce qui suggère que les rapaces intoxiqués ont probablement également ingérés des billes de produits adhérentes aux lombrics. [35]

La majorité des intoxications aux organophosphorés et aux carbamates chez les milans royaux sont des intoxications malveillantes volontaires : des appâts (proies) remplies de pesticides sont disposées sur les lieux de passages des espèces cibles carnivores (renards, blaireaux, chiens errants, rapaces) ... Charognards, les milans sont d'autant plus susceptibles de consommer ces appâts.

Dans le sud de l'Europe, l'aldicarbe et le carbofuran sont impliqués dans 75% des cas d'intoxication aux pesticides chez les rapaces, et 100% des appâts, mettant en évidence la possibilité d'accéder à des molécules pourtant interdites d'utilisation en Europe depuis 2008.

En Italie, l'analyse d'environ un millier d'appâts récoltés sur dix ans ne met en évidence aucune différence de répartition entre les zones urbaines et rurales [10] Les Anticholinestérasiques sont les molécules les plus identifiées dans ces appâts malveillants (59,1 %), en dépit de l'interdiction de l'utilisation de la plupart de ces molécules dans l'Union Européenne. Il est difficile de savoir si ces molécules proviennent d'anciens stocks non encore écoulés ou bien si des circuits d'approvisionnement illégaux se sont mis en place dans l'UE.

En Pologne, l'analyse de foies de rapaces ces dix dernières années a mis en évidence des traces de carbofuran dans 33% des cadavres d'aigles et 54% des cadavres de busards, avec des concentrations allant de 11 à 1890 µg/kg de matière sèche. Ainsi, en plus des rapaces consommant des appâts, il est probable que des rapaces puissent toujours être exposés à des traces de carbamates dans l'environnement [39].

- *METABOLISME ET CLINIQUE*

Les OP peuvent pénétrer l'organisme par toutes les voies : digestive, respiratoire, transcutanée et conjonctivale.

Une fois absorbés, les OP se distribuent dans tout l'organisme, donc le système neurologique en franchissant la barrière hémato-méningée. Certaines molécules plus liposolubles peuvent également rester stockées dans des tissus graisseux.

Les thio-phosphates (malathion, parathion, chlorpyrifos) sont activés par les cytochromes P450 dans le foie pour acquérir leur activité anticholinestérasique.

En inhibant l'Acétylcholine Estérase (AChE), les OP sont responsables de l'interruption de l'hydrolyse de l'acétylcholine dans les espaces inter-synaptiques. L'accumulation de l'acétylcholine est responsable d'effets muscariniques, nicotiniques et nerveux centraux (tableau).

Les molécules et métabolites sont ensuite hydrolysés et éliminés dans les urines (et dans une moindre mesure dans les selles). La demi-vie de plus de 80% des molécules est inférieure à 48h.

Tableau III : Effets de l'inhibition de l'AcétylcholineEstérase (AChE)

Système	Récepteurs	Organe ou tissu	Action	Effet clinique
Parasympathique	Muscariniques	Œil	Myosis	Troubles de la vision Larmolement, salivation, hypersudation  Rhinite, Œdème pulmonaire
		Glandes lacrymales, salivaires, sudoripares	Sécrétion	
		Cellules à mucus des voies respiratoires et du tube digestif	Sécrétion	
Sympathique	Muscariniques	Bronches et tube digestif	Contraction du muscle lisse	Bronchospasme, nausées, crampes et douleurs abdominales
Jonction neuromusculaire	Nicotiniques	Muscles squelettiques	Contraction	Fasciculations, crampes, paralysies du diaphragme et des muscles respiratoires
Système nerveux central	Nicotiniques	Cœur Œil Cerveau	Excitation  Mydriase  Signes nerveux en hyper, puis en hypo	Tachycardie, hypertension   Malaises, Confusion mentale, ataxie, tremblements, coma, convulsions, dépressions des centres respiratoires, hypotension.

La DL50 des OP varie sensiblement d'une molécule à l'autre, et dépend avant tout de l'affinité pour l'AchE.

Les OP sont également responsables de l'inhibition de l'AchE présente dans les hématies « cholinestérase globulaire », et des estérases non spécifiques comme les hépatiques, mais cela est sans conséquence clinique documentée à ce jour.

- *DETECTION*

En France, où la quasi-totalité des intoxications aux organophosphorés ou carbamates sont causées par des empoisonnements malveillants, les rapaces sont fréquemment retrouvés morts sans symptômes ni lésions apparentes.

Parfois, l'appât peut même être retrouvé à proximité immédiate du cadavre, permettant de suspecter très fortement une intoxication malveillante.

La détection des pesticides se fait communément sur le contenu gastrique, en particulier si celui-ci présente une apparence suspecte (colorant rouge ou bleu par exemple).

Il a également suggéré que sur un cadavre découvert en état de décomposition avancé, le bec et les serres des rapaces pouvaient être utilisées pour rechercher des traces de pesticides [77]

### C. INTOXICATION PAR LES RODENTICIDES ANTICOAGULANTS

De nombreuses molécules ont été utilisées par l'homme pour lutter contre les infestations de rongeurs nuisibles : convulsivants, cardiotoxiques, hypercalcémiant...

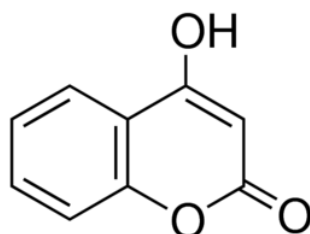
Les anticoagulants sont les molécules les plus employées depuis les années soixante. En effet, ces molécules ne présentent pas d'aversion alimentaire, et un antidote est facilement disponible en cas d'ingestion accidentelle par un humain ou un animal domestique.

De plus, les rats en particulier sont méfiants lors de l'ingestion d'un aliment inconnu. Certains individus goûtent la nourriture avant le reste du groupe afin d'en tester l'innocuité. Le délai entre l'ingestion de l'appât et l'apparition des symptômes permet une efficacité des molécules anticoagulantes malgré la prudence initiale des rongeurs.

- CHIMIE

Il existe trois principales familles d'anticoagulants.

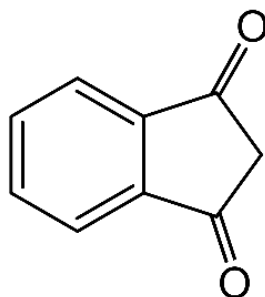
Les dérivés coumariniques ont pour noyau commun l'hydroxy-4-coumarine. Les principaux représentants de la famille sont le coumafène, la bromadiolone, le coumatétralyl, le coumachlore, le difénacoum, le flocoumafène et le brodifacoum.



---

*Figure 7 : structure moléculaire de l'hydroxy-4-coumarine*

Les dérivés de l'indanone, la diphacinone et la chlorophacinone, ont pour noyau de base l'1,3-Indanédione



---

*Figure 8 : structure moléculaire de l'1,3-Indanédione*

Enfin, les dérivés thiocoumariniques, issus de l'hydroxythiocoumarine, avec comme molécule principale la diféthialone

### 1) DIFFERENTES GENERATIONS D'ANTICOAGULANTS

De nombreux composés anticoagulants ont été développés et utilisés dans le monde. Parmi la quinzaine de molécules employées, on distingue deux générations d'anticoagulants, qui se différencient principalement par leur létalité.



Tableau IV : Récapitulatifs des différentes générations des molécules utilisées et de leurs principales propriétés

Première génération	Warfarine, Pindone, Coumafuryl, Coumachlor, Isovaleryl, Chlorophacinone Indanedione Diphacinone	Ces composés sont rapidement métabolisés par l'organisme. Ainsi, l'ingestion d'une dose très importante, ou des ingestions répétées sont nécessaires afin d'atteindre une concentration létale. Des mutations génétiques sont à l'origine de résistances de plus en plus fréquentes chez les rongeurs ciblés c'est pourquoi ces molécules sont moins utilisées
Deuxième génération	Brodifacoum, Bromadiolone, Diféthialone Difénacoum Flocoumafène	Ces molécules sont très liposolubles, ce qui entraîne une rémanence hépatique encore plus importante. Une ingestion unique est suffisante pour être létale.

Le tableau suivant compare les temps de demi-vie hépatique des anticoagulants de première et deuxième génération [57]

Tableau V : Comparaison des temps de demi-vie des différentes molécules dans le foie des souris

½ vie de la molécule dans le foie de souris (days)	Warfarine	Coumatétralyl	Chlorophacinone	Brodifacoum	Bromadiolone	Difénacoum	Diféthialone	Flocoumafène
	66,8	15,8	35,4	307,4	28,1	61,8	28,5	93,8

- **REGLEMENTATION**

En Europe, les rodenticides sont des pesticides régis par deux législations : en tant que pesticide, pour la Bromadiolone uniquement, jusqu'en 2021, et en tant que biocides pour tous les autres.

Depuis 2019, le coumafène est classé comme substance dont la toxicité pour la reproduction humaine est avérée. Les autres anticoagulants rentrent ainsi dans cette même classe de danger de catégorie 1A, c'est le cas du brodifacoum, ou 1B (substances présumées toxiques pour la reproduction humaine), ce qui est le cas du difénacoum, du coumatétralyl, de la chlorophacinone, du flocoumafène, de la bromadiolone et du diféthialone.

Les différents utilisateurs de ces produits sont répartis en trois catégories : grand public, utilisateurs professionnels (agriculteurs, certains agents municipaux, etc...), et utilisateurs professionnels « formés », soit les sociétés de prestation possédant le certibiocide.

Si un site présente un risque élevé de ré-infestation après traitement, l'Union Européenne autorise un traitement permanent avec certaines molécules (difénacoum, flocoumafen, bromadiolone, diféthialone). Cependant un tel protocole nécessite de prouver l'échec des traitements initiaux.

Pour la France, le texte renouvelant l'AMM des différents produits est émis par l'ANSES. Les quantités de produits utilisables dépendent du nuisible combattu (rats ou souris), du niveau d'infestation, de la formulation. Ainsi la distance entre les postes d'appâtage selon le produit peut varier de 5 à 10m voir 15m pour les rats et de 1 à 3m pour les souris. En cas d'infestation (appâts consommés) il faut ré-intervenir dans les 5 à 7 jours pour les rats et 2 à 3 jours pour les souris, puis toutes les semaines jusqu'à l'arrêt des consommations ou de signes montrant encore la présence de rongeurs.

Si au bout de 35 jours la présence de rongeurs est toujours avérée, il est nécessaire de revoir le dispositif mis en place, et de changer de matière active (anticoagulant plus fort ou non-anticoagulant) et éventuellement de mettre en place méthodes alternatives. Lorsque l'infestation est éliminée, les dispositifs d'appâtage sont retirés. Il est possible de laisser en place un bloc d'appâtage « placebo » afin de constater un éventuel retour des rongeurs nuisibles.

- *FORMULATIONS*

Les rodenticides sont commercialisés en France sous plusieurs formes :

- Les appâts prêts à l'emploi

Classiquement sous forme de granulés rouges ou bleus, cette formulation peu concentrée (en général 0.0025 à 0.0375%) est destinée au grand public pour un usage domestique : caves, greniers...

- Les concentrés pour la confection d'appât

Ce sont des poudres ou liquides pouvant contenir jusqu'à 0,25 % pour les concentrats huileux de chlorophacinone ou 1 % pour le coumafène. L'usage de ces préparations est réservé aux professionnels.

- Les poudres de piste

Elles sont déposées sur le passage des rongeurs, elles adhèrent aux pattes et aux poils de l'animal qui les ingère en se léchant. Elles sont dosées à des concentrations de 0,2 à 1%, et sont prohibées à proximité de tout stock de nourriture de consommation humaine [21]

- *APPLICATION DE RODENTICIDES EN FRANCE ET EN EUROPE*

Les anticoagulants sont massivement utilisés en France et plus largement en Europe pour la lutte contre les infestations de rongeurs. Cette lutte s'organise en deux axes principaux :

-Utilisation dite « agricole » dans la lutte contre le campagnol terrestre (*Arvicola amphibius*) et le campagnol des champs (*Microtus arvalis*) principalement

Cette utilisation des rodenticides est régulée par l'arrêté du 14 mai 2014. La lutte repose sur le diptyque « surveillance des populations » et « lutte précoce, raisonnée et collective ». [92]

Les professionnels de l'agriculture sont autorisés à utiliser des appâts, souvent des grains contenant de la bromadiolone. Ces appâts doivent être enfouis, soit en utilisant une charrue sous-soleuse, qui dépose les grains dans les galeries qu'elle crée, soit à l'aide d'un fusil qui projette les grains directement dans les terriers.

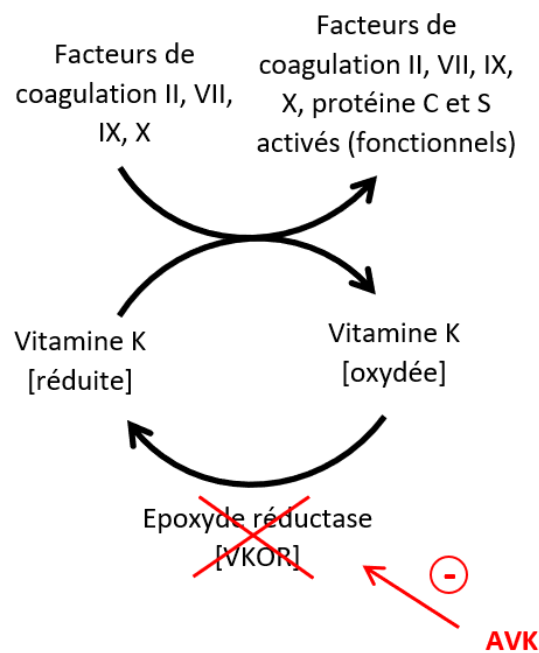
Ce plan d'action est strictement contrôlé par l'OVS (Organisme à Vocation Sanitaire), et la délivrance de produits phytosanitaire contenant de la bromadiolone ne peut se faire que dans le cadre d'un plan d'action régional.

De plus, l'emploi de bromadiolone est interdit dans les zones d'habitat du grand Hamster d'Alsace.

Les deux régions les plus concernées par l'emploi de bromadiolone dans les cultures sont l'Auvergne et la Franche-Comté, et dans une moindre mesure la région grand-est.

-Utilisation dite « urbaine », dans le cadre de la lutte contre le rat (*Rattus norvegicus*) et la souris (*Mus musculus*) : des appâts ou des stations d'appâtage sont disposées autour des bâtiments infestés, dans les égouts, dans les décharges à ciel ouvert.

- *METABOLISME*



**Figure 9 : Métabolisme des molécules rodenticide anticoagulante et interférence avec le cycle de la VKOR**

Les anticoagulants utilisés dans l'environnement pour lutter contre les rongeurs nuisibles inhibent l'enzyme vitamine K epoxyde réductase (VKOR), composant essentiel du cycle de la vitamine K.

Plus qu'un cofacteur, la vitamine K est le cosubstrat d'une gamma-glutamyl carboxylase qui, en la consommant, relâche son époxyde. La quantité de vitamine K apportée par l'alimentation étant limitée, il est impératif de recycler cet époxyde en vitamine K réduite, à nouveau disponible pour la gamma-glutamyl carboxylase, et c'est cette réaction qu'accomplit la VKOR.

De nombreux facteurs (VII, IX, X, la prothrombine, et la protéine C) et un cofacteur (le S) sont dépendant de la vitamine K pour leur bon fonctionnement et tous essentiels dans l'hémostase.

L'absence de gamma-carboxylation fait perdre aux cinq proenzymes de la cascade de la coagulation leur capacité d'adhérer à la surface des plaquettes sanguines via la formation de sites de liaison au calcium.

- *SIGNES CLINIQUES*

### **Toxicité aigue**

Une intoxication aiguë aux anticoagulants se produit à la suite de l'épuisement des facteurs de coagulation. Celle-ci peut être accélérée par une hémorragie, interne ou externe faisant suite, par exemple, à un traumatisme.

L'intoxication se manifeste par des troubles de la coagulation, qui se traduisent par des hémorragies, une anémie (muqueuses pâles), une ataxie, des troubles respiratoires.

Des doses toxiques ont été mesurées en laboratoire lors d'exposition expérimentale, principalement chez les rats et souris.

*Tableau VI : DL50 (mg/kg) orale expérimentale chez le rat et la souris*

	Couma- fène	Couma- tétralyl	Chloro- phacinone	Dipha- cinone	Broma- diolone	Diphé- nacoum	FLocou- mafène	Diphé- nacoum	Diphé- tialone
Rat	186	16,5	6,26	2,5	1,125	1,8	0,25	0,29	0,56
Souris	374		1,9	340	1,75	0,8	0,8	0,4	1,29

Cela est cependant difficile à mettre en relation avec la réalité de terrain : les doses toxiques varient d'une espèce à l'autre et d'un individu à l'autre. De plus chez les rapaces, l'ingestion d'une quantité importante (consommation directe d'un appât), est très rare car ceux-ci ne sont pas appétents pour eux.

## Toxicité chronique

Les effets d'ingestion de faibles doses d'anticoagulants sont encore mal déterminés. Cependant, il est supposé que cela pourrait diminuer le succès de reproduction, en affectant le nombre d'oisillon par nichée, le poids à la naissance.

Une étude réalisée entre 2008 et 2009 en Malaisie a mis en évidence que les poussins de chouette effraie nés dans des zones traitées à la warfarine et au coumafène étaient significativement plus petits et plus légers que les poussins d'une aire non traitée.

L'étude d'échantillons de sang de buses à queues rousses aux Etats-Unis n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation entre la présence ou l'absence d'anticoagulants dans le sang et l'importance du parasitisme des érythrocytes de l'oiseau (par les protozoaires de l'ordre *haemosporida*), le rapport hétérophiles/lymphocytes [70], ou la masse et la taille des oiseaux [69].

L'amélioration des techniques de dosages depuis les années 2010 permet désormais la détection des résidus même en très faible, quantité. Cependant, l'exposition reste difficile à évaluer du vivant de l'animal car les antivitamine K ont une très courte demi-vie dans le sang, et des biopsies hépatiques sont difficilement réalisables sur le terrain du vivant de l'animal.

- *EXPOSITION DU MILAN ROYAL*

Le Milan royal, comme tous les rapaces diurnes et nocturnes de France, est peu considérée par l'ingestion directe d'appât, car les formulations employées pour la lutte contre les rongeurs sont à base de céréales, et par conséquent peu appétentes pour les carnivores. Les oiseaux les plus souvent victimes d'intoxication primaires aux anticoagulants sont les oiseaux granivores (51%). [79]

Cependant, plusieurs cas d'intoxications primaires malveillantes sont rapportés. Les rodenticides anticoagulants ne sont pas les molécules les plus utilisées lors de la confection d'appâts, cependant des cas de boulettes de viande aux granulés d'anticoagulants sont rapportées en Italie. [1] En Espagne, des anticoagulants ont été détectés dans 19% des appâts préparés à destination des carnivores [79]

Les animaux visés par ces appâts malveillants peuvent être des chiens, chats, renards, blaireaux, rapaces...

Les rapaces sont davantage concernés par les intoxications secondaires aux anticoagulants : soit par consommation d'un rongeur venant tout juste de se nourrir, et ingestion du contenu gastrique, soit par la consommation de cadavre de rongeurs victime d'une intoxication. Les rapaces nocturnes sont plus touchés que les rapaces diurnes.[79]

Cependant, le régime alimentaire du milan royal le rend tout particulièrement sensible aux rodenticides anticoagulants. En effet, comme abordé dans la première partie, le milan est un opportuniste, qui va se spécialiser dans la source de nourriture la plus disponible.

Ainsi, en 2008, lors de l'infestation de campagnols dans les cultures en Franche-Comté, l'étude des pelotes de régurgitation ont permis de mettre en évidence que le régime alimentaire des milans se composait à presque 94% de campagnols

Or, c'est justement lors de ces périodes d'infestation que le recours à la lutte chimique dans les cultures est important. La dose de bromadiolone ingérée par un rapace au cours de cette période était 137 fois plus haute que le seuil toxique de référence chez les oiseaux. [14]

Le milan est davantage concerné que les autres rapaces, car, opportuniste, il se nourrit volontiers de cadavres et de charognes.

Lors d'une expérience de prédation de cadavres de rongeurs, réalisée avec des campagnols sains, mais dans des zones traitées chimiquement à la bromadiolone, il a été observé que les corvidés, les Milans royaux et les Buses variables (*Buteo buteo*) étaient les prédateurs les plus souvent observés se nourrissant sur les charognes. [15]

Une autre piste est la part non négligeable d'insectes et de lombrics dans le régime alimentaire du milan royal.

Les lombrics (*E. fetida*) sont sensibles à la bromadiolone, soit par intoxication directe sur les appâts, soit lorsqu'ils sont placés dans un sol contaminé. Une concentration de 1

mg/kg sol s'est avérée toxique pour les vers de terre, une concentration atteinte lors du traitement des galeries de campagnols à l'aide de bromadiolone.

La demi-vie de la bromadiolone dans le sol est estimée à cinq jours, une bioaccumulation de bromadiolone dans les lombrics est notée pendant quatorze jours, avec une mortalité croissante. [37]

- *PERSPECTIVES DE PROTECTION*

### **Utilisation raisonnée des anticoagulants rodenticides**

Etant données les habitudes alimentaires du milan, le ramassage systématique des cadavres d'animaux empoisonnés, en particulier autour des bâtiments et dans les décharges, empêcherait leur consommation. Néanmoins, c'est une mesure difficile, voire impossible à mettre en place en zone rurale, ou les rongeurs victimes d'anti-coagulants dans les cultures sont dispersées sur des étendues trop importantes pour être ramassés.

Chez les renards, il a été établi en Franche-Comté, qu'un traitement préventif aura moins d'impact sur la densité de population qu'un traitement chimique mis en place un fois l'explosion de la population constatée. En effet, la prévention requiert l'emploi de quantités d'appât moins importantes, ce qui se répercute par un impact moindre sur les prédateurs et le reste de la chaîne alimentaire. [38]

### **Stéréoisomères**

Les préparations de bromadiolone actuellement disponibles dans le commerce sont composées de 70% de trans-bromadiolone et 30% de cis-bromadiolone environ.

Des stéréoisomères sont des molécules possédant la même formule développée (ou semi-développée), mais des configurations géométriques différentes. Une molécule est dite « trans » si les groupes prioritaires se trouvent de part et d'autre de la double liaison carbone-carbone ; une molécule est dite « cis » par la présence des groupes prioritaires du même côté de la double liaison carbone-carbone.

L'efficacité des deux stéréoisomères de la bromadiolone a été comparée : la toxicité sur les rongeurs est équivalente. En revanche, la demi-vie de la trans et de la cis-



bromadiolone est différente, car les deux molécules ne sont pas métabolisées de la même manière par l'organisme.

Lors de l'analyse de fragments de foies de rapaces, la cis-bromadiolone est peu ou pas retrouvée, au contraire de la trans-bromadiolone : le cis-stéréoisomère ne s'accumule pas dans la chaîne alimentaire en raison de sa demi-vie plus courte. [20]

Des conclusions similaires ont été établies pour les quatre stéréoisomères de la diféthialone [43].

L'élaboration d'appât faisant varier les proportions de trans et cis-stéréoisomères pourrait ainsi être une piste pour la préservation des espèces non-cibles des anticoagulants et victimes d'intoxications secondaires.

## II. LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Les éléments traces métalliques, parfois désignés (à tort) sous l'appellation « métaux lourds », regroupent l'ensemble des métaux et des métalloïdes présentant une toxicité pour les êtres vivants.

Un métalloïde est un élément chimique dont les propriétés sont intermédiaires entre celles des métaux et des non-métaux ou sont une combinaison de ces propriétés.

*Tableau VII : métaux, métalloïdes et leurs abréviations*

Métaux	
Cadmium	Cd
Chrome	Cr
Cuivre	Cu
Fer	Fe
Mercure	Hg
Nickel	Ni
Plomb	Pb
Sélénium	Se
Zinc	Zn
Métalloïdes	
Arsenic	As
Antimoine	Sb

## 1) PLOMB

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole Pb. Dans les conditions standard le corps simple plomb est un métal malléable et gris bleuâtre.

Les maladies et symptômes qu'il provoque chez l'humain ou l'animal sont regroupés sous le nom de « saturnisme ».

### A. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET ENVIRONNEMENT

Le plomb est un ETM naturel retrouvé dans la croûte terrestre, toutefois peu présent dans notre environnement [31] De plus, le nombre des gisements de minerai de plomb concentrés et facilement accessibles est étonnamment élevé et répandu dans le monde. Le plomb se manifeste surtout sous forme de sulfure, dans la galène. [88]

### B. UTILISATION

Les Hommes utilisent le plomb depuis l'antiquité.

En dépit de sa toxicité, sa facilité d'extraction, sa malléabilité et son bas point de fusion en ont fait un métal très travaillé, en particulier par l'empire romain.

A partir du XIX<sup>e</sup> siècle, des études mettent en lumière la toxicité du plomb pour l'homme et l'environnement. Il sera interdit progressivement dans les peintures, les canalisations ainsi que pour d'autres usages domestiques. L'interdiction totale d'emploi dans les canalisations en France date de 1995.

Matériau très résistant à la corrosion, il est aujourd'hui encore utilisé dans un grand nombre d'industries humaine, dont principalement la fabrication de batteries d'accumulateurs, de munitions, de dispositifs de protection contre le rayonnement nucléaire et les rayons X, de gaines, de revêtements de plomb pour les toitures, de matériaux de restauration des bâtiments anciens, de revêtements résistant aux produits chimiques, de matériaux anti-bruit, d'équipement de véhicules à moteur et d'autres moyens de transport et dans la composition de roulements. [88]

#### C. REGLEMENTATION

Le Code du travail fixe pour le plomb et ses composés une valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) réglementaire contraignante de 0,1 mg/m<sup>3</sup>, à ne pas dépasser en moyenne sur 8 heures dans l'atmosphère des lieux de travail.

Des mesures très strictes doivent être respectées en cas d'intervention sur des peintures ou des canalisations au plomb, notamment l'utilisation d'un système d'aspiration avec filtration, et la mise à disposition de douches pour les employés, ainsi qu'un lavage des mains et du visage avant de manger ou de boire.

Les valeurs limites biologiques (VLB) réglementaires contraignantes à ne pas dépasser sont fixées à 400 µg de plomb par litre de sang pour les hommes et à 300 µg/l de sang pour les femmes [13]

A ce jour, l'utilisation de grenaille de plomb pour la chasse est prohibée dans les zones humides depuis 2006 [55], c'est-à-dire en mer, ou sur tout autre plan d'eau douce ou salée (étang, rivière, canal, lac...), ainsi qu'à moins de trente mètres de ces étendues d'eau, sauf si les grenailles sont tirées dans une autre direction que celle du plan d'eau, à l'exception des balles de plomb destinées au gros gibier (cerf, sanglier).

L'European Chemical Agency estime que chaque année, 100 000 tonnes de plomb se répandent dans l'environnement de l'UE en raison de son utilisation en tant que munition : 79 % proviennent du tir sportif, 14 % de la chasse et 7 % des activités de pêche. L'ECHA propose donc une abolition totale de l'utilisation du plomb des 2022 (avec une période de transition de cinq ans, et des dérogations pour le tir sportif où les rejets dans l'environnement peuvent être mieux contrôlés). [82]

Cependant en dépit de l'interdiction, le manque de munitions alternatives risque de motiver de nombreux chasseurs à continuer d'employer des munitions à base de plomb pour la chasse, comme le montre ce témoignage anonyme sur un forum dédié à la chasse « J'aurais un peu d'acier dans la cartoucière en cas de contrôle, mais j'ai assez de stock pour chasser au plomb jusqu'à la fin de ma vie »

#### D. EXPOSITION

Les oiseaux sont le plus souvent exposés au plomb via les plombs de chasses reçus ou perdus dans l'environnement. Une intoxication par des poussières de vieilles peintures ou de l'eau contaminée par les canalisations est en théorie possible, mais aucun cas n'est actuellement documenté.

Les lacs, rivières et régions marécageuses, où sont communément chassés les anatidés et les colombidés, sont donc des zones particulièrement exposées. Les oiseaux qui avalent du grit pour faciliter leur digestion sont eux les plus susceptibles d'ingérer des fragments de plombs tombés dans l'environnement, soit munitions de chasse, soit des poids de pêche dans le cas des oiseaux d'eaux.

En 1990 en Camargue, l'analyse de 1155 gésiers de nombreux oiseaux d'eau a mis en évidence la présence de plomb de chasse dans l'estomac de 13,6% des anatidés, avec des variations allant jusqu'à 60% chez certaines espèces. De plus, une forte corrélation a été montrée entre la présence d'un plomb et la granulométrie du grit chez une espèce.

Les rapaces sont exposés à l'ingestion de plomb via la consommation de proies contenant déjà des fragments de munitions : soit des proies directement victimes de tirs, mais qui n'ont pas été retrouvées et collectées par le chasseur, soit des oiseaux ayant ingéré des fragments perdus dans l'environnement.

Cela est particulièrement vrai pour les espèces se nourrissant volontiers de proies déjà très affaiblies ou mortes, comme cela est le cas pour la plupart des vautours en général, et pour le milan royal en particulier.

L'analyse des différents isotopes du plomb retrouvé dans le foie des rapaces, sur des oiseaux fortement comme faiblement intoxiqués, montre que le plomb responsable de la contamination des oiseaux est quasi exclusivement issu de munitions, par rapport à d'autres sources de contamination éventuelles (carburants notamment ou autres sources géologiques) [65]

Les rapaces sont également victimes de tir direct. Les admissions en Centre de soin en Virginie de rapaces victimes de tir représentent 3,7% des admissions totales de rapaces, avec une diminution significative entre 1993 et 2002. [76]

En Europe, bien que tous les rapaces soient protégés par la loi, les tirs directs sont la 2<sup>ème</sup> cause d'admission en centre de soin pour trauma dans le sud de l'Espagne entre 2003 et 2013 (la première étant une collision avec un véhicule ou un bâtiment). Il est également constaté que 41% de ces tirs sont recensés en dehors de la période de chasse, ce qui suggère une persécution volontaire plutôt que des tirs accidentels.

Les données du laboratoire de toxicologie de VetAgroSup ont mis en cause le plomb dans la mort de 17% des rapaces retrouvés morts sur sept ans dans les Pyrénées. Il a également été mis en évidence une corrélation entre une contamination par le plomb et une mort par trauma (collision avec un véhicule, un bâtiment, une ligne électrique...). Il a également été démontré que les plombs présents sur des rapaces victimes de tir pouvait diffuser progressivement et provoquer une augmentation significative de la plombémie.

### **Prédispositions**

Plusieurs études évoquent que le régime des oiseaux a une influence sur l'absorption du plomb et sa fixation dans les tissus [80], [99]. De manière générale, un régime équilibré riche en protéines et en calcium semblerait limiter les effets d'une intoxication au plomb, en réduisant son absorption au niveau intestinal. De plus, s'il est ingéré avec de la nourriture, certains groupes chimiques contenus dans les aliments pourraient jouer un rôle de ligand, et contenir le plomb sous forme insoluble, donc non absorbable, dans l'intestin. [87\*]

Chez le vautour Percnoptère (*Neophron percnopterus*), il a été mis en évidence que le plomb était retrouvé en plus grande quantité chez les mâles que chez les femelles. Cette différence pourrait s'expliquer par des variations dans le comportement de recherche alimentaire (décrit en particulier chez les rapaces qui présentent un dimorphisme sexuel) [42]

## **Métabolisme**

Chez la majorité des espèces, une intoxication au plomb perturbe le métabolisme des érythrocytes, le système nerveux central, et le tractus gastro-intestinal.

L'absorption du plomb chez tous les animaux, dont l'homme, est majoritairement gastro-intestinale, mais une intoxication via l'appareil respiratoire, et de façon moindre par voie transcutanée est possible. [58]

Les plombs ingérés par les oiseaux sont dissous par le pH acide dans l'estomac, où la présence de grit et l'action mécanique de la paroi musculaire du gésier peut également contribuer à l'érosion du plomb. Chez les oiseaux d'eau, il a été montré que si l'oiseau survivait assez longtemps, les plombs n'étaient plus retrouvés dans le gésier après une moyenne de vingt jours : soit le plomb s'est évacué naturellement dans les fientes, soit il a été totalement érodé. Chez les oiseaux de proie, il arrive également que les plombs ingérés soient rapidement évacués dans les pelotes de réjection.

Une fois absorbé, le plomb se répartit rapidement dans les tissus mous les plus irrigués, en particulier le foie, les reins, les os et les plumes en croissance. Quatre-vingt-dix pour cent du transport du plomb se fait lié aux érythrocytes [58]

L'ETM se répartit ensuite à moyen terme dans les organes les plus irrigués (foie, rate), avant d'être fixé sur le long terme par le tissu osseux.

Le plomb mime l'activité métabolique du calcium en raison de similarités chimiques. Le plomb est un bon compétiteur du calcium, ce qui peut avoir des effets délétères sur les mitochondries, le fonctionnement des muscles lisses ou encore la transmission d'informations nerveuses.

Enfin, le plomb perturbe la synthèse de l'ADN et de l'ARN, altérant l'information génétique. [48]

L'élimination du plomb est majoritairement fécale (via la bile) si la contamination est orale, et urinaire si la contamination est parentérale ou respiratoire. [58]

La demi-vie du plomb dans le compartiment sanguin est d'environ deux semaines. Elle est de l'ordre de plusieurs semaines à mois dans les tissus mous (en particulier le sang et les reins), et de plusieurs années dans les os [40] En conséquence, la concentration de plomb la plus élevée est celle mesurée dans les os, qui reflète l'exposition de l'oiseau sur plusieurs années.

### **Evaluation de l'exposition**

La quantité de plomb dans l'os est relativement stable, et le plomb s'y accumule tout au long de la vie de l'animal, reflétant davantage l'exposition environnementale chronique qu'un éventuel épisode d'intoxication aigu. Cependant, la cinétique d'accumulation et d'élimination du plomb osseux semble être accéléré chez la femelle en ponte, chez laquelle les dosages devront donc être interprétés avec davantage de prudence.

Les plumes, facilement accessibles sur l'oiseaux, peuvent en théorie être utilisées pour évaluer l'exposition au plomb. Cependant, les plumes sont sujettes au dépôt de plomb atmosphérique, et même nettoyées il est difficile de faire une distinction entre une contamination au plomb d'origine endogène et exogène. Chez les jeunes oiseaux, un taux de plomb particulièrement élevé retrouvé dans une plume peut être évocateur d'une importante exposition durant la croissance de la plume.

Le foie et le rein sont classiquement utilisés pour évaluer la quantité de plomb présente dans les tissus mous. Dans la majorité des cas, la concentration retrouvée dans les os est supérieure à celle mesurée dans le foie et le rein, l'inverse étant évocateur d'une exposition aigu. L'os est donc le meilleur choix pour évaluer l'exposition chronique de l'oiseau sur toute la durée de sa vie, alors que le rein et le foie seront utilisés pour mettre en évidence une exposition récente.

Depuis quelques années, les études tendent à réaliser un monitoring actif (prélèvements de sang sur des oiseaux vivants) en plus du monitoring passif utilisé depuis des années (dosage sur des cadavres). [16]

Tableau VIII Seuils suggérés d'interprétation de la concentration en plomb des tissus chez les falconiformes [d'après 87\*]

	Blood (µg/dL)	Liver (mg/kg ww)	Kidney (mg/kg ww)
Intoxication subclinique	20 < 50	2 < 6	2 < 4 *
Intoxication clinique	50-100	6-10	4-6 *
Intoxication clinique sévère	>100	>10	>6 *

\* Bien que plusieurs études suggèrent des seuils plus haut plus le tissu rénal pour interpréter une intoxication chez les falconiformes, l'inverse a été mis en évidence chez plusieurs espèces, notamment des aigles et des faucons, la prudence est donc recommandée pour l'analyse de ces résultats et des seuils plus bas sont proposés ici [87\*]

### Clinique

La clinique d'une intoxication au plomb chez les rapaces est très variable et dépend fortement de la durée, de l'intensité et des circonstances de l'exposition.

Les intoxications se classent de suraiguë à chronique.

Si les expositions suraiguës sont souvent rapidement mortelles, sans toujours de symptômes spécifiques associés, les intoxications aiguës s'accompagnent d'un grand nombre de signes cliniques : anorexie, léthargie, ailes tombantes, biliverdinurie, diarrhée souillant le cloaque. Les signes digestifs suivent l'abrasion des villosités intestinales [87\*]

Le plomb inhibe l'activité de plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hème, en particulier l'acide delta-aminolévulinique déshydratase (ALAD), et l'acide aminolévulinique synthase (ALAS). L'ALAS est l'enzyme qui intègre le fer ferreux dans la protoporphyrine IX, dernière étape de la formation de l'hème. L'inhibition de l'ALAS résulte en l'accumulation de protoporphyrine IX dans le sang, qui peut éventuellement être détectée par fluorescence.



Les perturbations causées par le plomb dans le métabolisme de l'hème, où il empêche l'utilisation du fer, sont responsables d'anémies qui se traduisent cliniquement par un abattement et une pâleur des muqueuses. [58]

Un effet immunosuppresseur est également reporté dans plusieurs études sur les oiseaux. Chez des canards intoxiqués expérimentalement oralement avec une grenaille de plomb, une diminution significative de la réponse humorale a été mise en évidence [97] Au contraire, chez des buses à queue rousse (*Buteo jamaicensis*) exposées volontairement à de l'acétate de plomb, aucune atteinte du système immunitaire n'a été constatée pour de faibles doses administrées sur trois semaines. Lors de l'administration de doses plus élevées, durant onze semaines, une diminution significative de la réponse immunitaire à médiation cellulaire a été mise en évidence. Comme discuté précédemment, le stockage et la mobilisation du plomb dans les os par les femelles en période de reproduction pourrait induire des différences entre les deux sexes dans la modification de la réponse immunitaire. [36,26]

Lors d'intoxication chronique, il a été démontré que la quantité de plomb fixée par les os est corrélée négativement avec la minéralisation de ces derniers [22], le plomb ayant une action directe ou indirecte (en perturbant le métabolisme des ostéoblastes/ostéoclastes). Ce défaut de minéralisation pourrait se traduire par une augmentation de l'incidence des fractures chez les oiseaux intoxiqués sur le long terme. De plus, il a été observé une productivité (nombre de poussins par couple) plus faible chez les populations de vautours les plus contaminées par le plomb, ce qui s'expliquerait par le fait que les femelles mobilisent le calcium osseux pour former la coquille des œufs.

Toujours lors d'intoxications chroniques, la perte de poids et l'amyotrophie sont les symptômes les plus souvent observés. On retrouvera également parfois une impaction de l'œsophage et/ou du proventricule, une distension de la vésicule biliaire, des nécroses locales du tube digestif mais aussi des tissus musculaires et du cœur.

A l'histopathologie, la présence de corps d'inclusion intra-nucléaires acides dans les cellules tubulaires du rein semble être caractéristique d'une intoxication au plomb. D'autres lésions non spécifiques incluent une hémossidérose (dépôt excessif de fer dans les tissus),

une nécrose du myocarde et du muscle de la paroi du gésier, et des lésions dégénératives dans le cerveau et les nerfs périphériques.

## 2) CADMIUM

Le cadmium et ses principaux composés sont des solides : chlorure de cadmium ( $\text{CdCl}_2$ ), oxyde de cadmium ( $\text{CdO}$ ), sulfate de cadmium et sulfure de cadmium ( $\text{CdS}$ ). C'est un élément non-essentiel aux êtres vivants et un élément trace métallique issu des activités industrielles humaines. Il est considéré comme un sous-produit du raffinage du plomb, du zinc et du cuivre.

Le cadmium est utilisé dans la fabrication des accumulateurs électriques, dans l'industrie électronique et chimique, la photographie et dans la métallisation des surfaces.

Le cadmium présent dans l'atmosphère est issu pour une faible proportion de phénomènes naturels tels que les éruptions volcaniques. Cependant, les activités industrielles sont la principale source d'émission dans l'air. Le cadmium retrouvé dans l'eau est issu de l'érosion des sols, ou d'activités anthropiques comme les décharges industrielles. [30]

### **Propriétés physico-chimiques et environnement**

Le cadmium a des propriétés physiques et chimiques très similaires à celles du Zinc. A température ambiante, c'est un métal mou et malléable brillant qui ternit au contact de l'air.

Depuis plusieurs années, il est soupçonné que le dérèglement climatique résulte en une acidification des eaux douces. Le pH plus faible est compatible avec la dissolution d'une quantité de cadmium plus importante, ce qui augmente l'exposition des organismes aquatiques.

### **Utilisation**

Depuis les années 50, le cadmium a été massivement utilisé dans l'industrie en Europe pour la confection de moteurs et de différents alliages de métaux.

La répartition entre les différents secteurs d'activité était la suivante en 1997 : Cadmiage 8 %, Batteries 75 %, Pigments 12 %, Stabilisateurs 4 %, Autres 1 %. Les dérivés du cadmium comme le chlorure de cadmium ou l'oxyde de cadmium sont également utilisés

dans beaucoup d'autres domaines comme, en analyse chimique, en photographie, dans la teinture et l'impression des textiles, dans la fabrication de miroirs spéciaux, de tubes pour le vide et est employé comme lubrifiant

### **Réglementation**

En France, depuis 2019, la valeur limite d'exposition professionnelle indicative pour le cadmium est fixée à 0,004 mg/m<sup>3</sup> pour la fraction inhalable du cadmium et ses composés inorganiques. Il s'agit d'une VLEP dite "pragmatique", car il n'était pas possible de décider d'un seuil assurant d'éviter les effets cancérogènes de la substance. Cette valeur correspond aux réglementations européennes, en revanche l'Anses recommande des seuils d'exposition encore plus bas.

### **Exposition**

Les régions minières et industrielles sont les plus concernées par la présence de cadmium dans l'environnement. Toutefois, il est difficile d'apprécier le risque pour les bio organismes, car la biodisponibilité orale des éléments traces métallique varie en fonction du type de sol dans lequel il est contenu [32]

Le transport du cadmium est principalement fluvial, et les études existantes démontrent une tendance des organismes aquatiques et amphibiens à l'accumulation de cadmium [8]. Ainsi, les mollusques ont une forte prédisposition à l'accumulation du cadmium.

Les rapaces et les oiseaux en général sont exposés au cadmium via leur alimentation. Le milan royal, en particulier, est notablement exposé en raison de son alimentation opportuniste. Les milans se nourrissent fréquemment sur les décharges à ciel ouvert, où des objets contenant du cadmium peuvent être présents. Celui-ci, rincé par la pluie, contamine les sols, où il sera fixé par les plantes, ingérés par les insectes puis par les prédateurs.

La comparaison des taux de plomb et de cadmium hépatiques, rénaux et osseux de nombreuses espèces d'oiseaux méditerranéens montre une corrélation entre l'exposition aux ETM et le régime alimentaire. Ainsi, les rapaces nocturnes sont les moins exposés aux deux métaux, tandis que les espèces insectivores, et les oiseaux issus de régions industrielles

seraient les plus contaminés. Les Laridés et autres piscivores et molluscivores sont les plus exposés au cadmium. [41]

Le milan royal se nourrissant volontiers de proies débilites ou déjà mortes, est donc susceptible d'ingérer des animaux moribonds, déjà eux même victimes d'intoxication, des cadavres de poissons rejetés sur les côtes. Ce rapace serait donc plus concerné par une intoxication chronique au cadmium que des rapaces exclusivement chasseurs, comme cela est le cas de la plupart des rapaces nocturnes.

De plus, bien qu'elle n'ait encore été appuyée par des publications scientifiques, il existe une théorie proposée par plusieurs auteurs : les Milans royaux consomment volontiers des invertébrés, en particulier des lombrics potentiellement exposés aux engrais phosphorés qui contiennent du cadmium. Cela pourrait constituer une autre voie d'intoxication pour ces rapaces.

### **Prédispositions**

Une étude menée chez l'autour des palombes (*Accipiter gentilis*), la buse variable (*Buteo buteo*) et la chouette hulotte (*Strix aluco*) n'a mis en évidence aucune prédisposition d'âge ou de genre quant à l'exposition au cadmium [9] Cependant une autre étude met en évidence que la quantité de cadmium retrouvée dans le foie des oiseaux augmente avec l'âge. [27]

Les oiseaux ayant une espérance de vie longue et se nourrissant de mollusques sont donc les plus exposés a priori. Mais il est également supposé que ces oiseaux auraient évolué en sélectionnant des individus ayant une plus grande tolérance au cadmium que les autres espèces [74]

### **Métabolisme**

L'absorption du cadmium, chez les hommes comme chez les animaux, est possible par inhalation ou par ingestion. L'absorption pulmonaire dépend fortement de l'hydrosolubilité du sel inhalé et varie de fait entre 10% et 100%. L'absorption intestinale est estimée, chez l'homme, à environ 5%. [30]

Le métabolisme du cadmium est fortement corrélé au métabolisme du fer, du zinc et du cuivre. Des carences de ces éléments peuvent ainsi augmenter l'absorption intestinale de cadmium [8],[30]

De plus, la proportion de cadmium absorbée augmente avec la quantité ingérée, ce qui pourrait refléter un effet toxique sur l'épithélium intestinal [47]

Il n'existe cependant pas de dose toxique admise pour l'intestin, mais les études en laboratoire suggèrent que moins d'un milligramme de cadmium par kilogramme de nourriture peut être à l'origine de lésions de l'épithélium gastrique.

Les métabolismes du cadmium, du zinc et du fer étant liés, un régime riche en zinc pourrait augmenter la production de métallothionéine, et donc la fixation du cadmium. Chez les oiseaux sauvages, cette absorption pourrait également être augmentée par des lésions de l'épithélium intestinal ou bien par des carences en calcium, zinc ou fer. [8]

Le transport du cadmium dans le sang se fait via l'hémoglobine ou la métallothionéine, une protéine qui intervient également dans le métabolisme du zinc.

Une fois fixé à la métallothionéine, la demi-vie du cadmium dans l'organisme est sensiblement prolongée, ce qui pourrait conduire à sa bioaccumulation dans la chaîne alimentaire.

La concentration hépatique et rénale en zinc des groupes exposés au cadmium augmente avec le temps, ce qui est probablement dû à la synthèse de métallothionéine, ce qui induit un transport important de zinc du plasma vers les tissus du rein et du foie. [74]

### **Evaluation de l'exposition**

Le rein est l'organe qui présente la plus forte concentration de cadmium dans presque tous les cas. L'accumulation est plus lente dans le foie. Les analyses effectuées sur les muscles et les œufs révèlent des concentrations très faibles, souvent à la limite du seuil de détection. Du cadmium est parfois détecté dans les plumes, mais il est difficile de savoir si celui-ci provient du cadmium absorbé par voie intestinale ou de l'exposition au cadmium de l'atmosphère. Pour un oiseau en bonne santé d'une population sauvage, la concentration en

cadmium du foie reflète en général 1/10 à ½ de la concentration dans le rein du même oiseau.

Il est admis qu'utiliser la concentration hépatique reflète mieux l'exposition de l'oiseau que la concentration rénale. La concentration hépatique est en effet plus stable car le foie est moins sujet que le rein aux lésions induites par le cadmium : lorsque des lésions rénales apparaissent, la concentration rénale en cadmium diminue fortement (White et al., 1978 ; Goyer et al., 1984). Une faible concentration rénale peut donc refléter une faible contamination, ou bien au contraire une contamination importante et des lésions rénales

### **Clinique**

Aucune publication parue à ce jour n'évoque la clinique d'une intoxication au cadmium chez les rapaces, les effets évoqués sont donc extrapolés depuis d'autres espèces d'oiseaux.

#### Toxicité aiguë

Les deux principales toxicités aiguës chez l'homme sont la toxicité digestive à la suite de l'ingestion de cadmium, qui se manifeste par une gastro-entérite, des vomissements, une diarrhée et une myalgie, cependant ce mode d'intoxication est fortement limité par l'effet émétisant du cadmium. Son inhalation provoque une pneumonie chimique souvent mortelle, mais les oiseaux sont peu concernés par ce mode d'exposition.

#### Toxicité sub-aiguë

Une étude conduite sur des poulets de chair exposés volontairement au cadmium et au chlorpyrifos sur 45 jours a montré une nécrose des hépatocytes, des hémorragies et une infiltration par des hétérophiles et des cellules mononucléées. Dans le rein, une dégénérescence de la corticale des tubes et une atrophie ont été observées. L'atteinte plus sévère du groupe exposé simultanément au cadmium et au chlorpyrifos en comparaison avec les groupes témoins et exposés exclusivement à une seul des deux toxiques suggère que l'effet toxique du cadmium pourrait être potentialisé par une exposition simultanée aux pesticides. [24]

## Toxicité chronique

Chez l'homme, l'organe cible du cadmium est le rein. Une exposition récurrente au cadmium à de faibles dose est responsable d'une néphropathie irréversible se traduisant par une insuffisance rénale.

Une quantité de cadmium supérieure à  $200 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de tissu rénal est reconnue comme susceptible d'entraîner des troubles fonctionnels chez l'homme car la capacité de l'organisme à détoxifier le cadmium en synthétisant de la métallothionéine est alors dépassée.

Chez les mammifères en général, le testicule est un tissu particulièrement sensible à l'accumulation de cadmium, qui se fixe dans les tubes séminifères et l'épididyme. Il a également été montré chez le campagnol que les individus exposés au cadmium avaient un poids significativement plus faible, et une mortalité plus importante que les individus témoins [74]

Sur les oiseaux, lors d'exposition en laboratoire, il est également fait mention d'effets sur la reproduction, tels qu'un amincissement de la coquille de œufs et un effet tératogène [8]





## PARTIE II

# ANALYSE DES DONNEES DU LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE DE VETAGROSUP



## I. MATERIEL ET METHODE

Les animaux inclus dans cette étude sont des cadavres de milans royaux découverts en France entre 2013 et 2020, par des salariés et des bénévoles et l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), ou des associations locales de chasseurs.

Tous les cadavres collectés sont ensuite autopsiés par les services vétérinaires du département concerné. Des analyses bactériologiques, histologiques ou parasitologiques sont réalisées lorsque cela est nécessaire.

Lorsque les circonstances du décès (mort subite de plusieurs oiseaux dans un périmètre restreint, découvertes d'appâts, utilisation massive de pesticides dans la zone...) ou l'autopsie (bonne condition physique, absence de lésions à l'autopsie, présence d'hémorragie sans plaie visible...), des échantillons de tissus sont transmis au Laboratoire d'analyses toxicologiques de VetAgroSup.

Les échantillons sont ensuite analysés par le laboratoire, en suivant les techniques consensuelles. Néanmoins, les analyses sont subventionnées par les associations de chasse ou de protection de la faune sauvage. Les fonds, souvent limités, ne permettent pas toujours de réaliser un screening complet sur chaque oiseau.

Les toxiques recherchés peuvent être des biocides (Anticoagulants, chloralose, organo-chlorés, organophosphorés, carbamates), ou des éléments traces métalliques (plomb, cadmium...). D'autres résidus peuvent également être recherchés mais ne font pas partie des recherches les plus couramment effectuées : par exemple, les barbituriques ou autres résidus de médicaments vétérinaires.

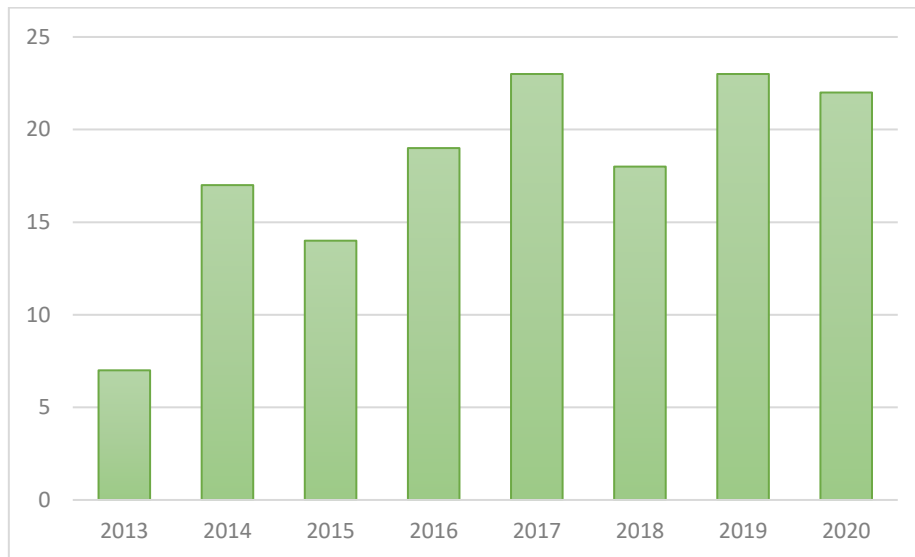
Pour toutes les analyses de données, le test du chi-2 a été utilisé sur les séries de données qualitative, et le résultat considéré comme statistiquement significatif lorsque  $p\text{-value} < 0,05$ .

Lorsque des tests de comparaison de moyenne sont réalisés, en raison du faible nombre d'échantillons ( $n < 30$  dans la totalité des cas) et de répartitions des valeurs ne suivant pas une distribution normale, le test non paramétrique de Wilcoxon a été utilisé, en considérant le résultat significatif lorsque  $p\text{-value} < 0,05$ .

## II. RESULTATS

### A. POPULATION D'ETUDE

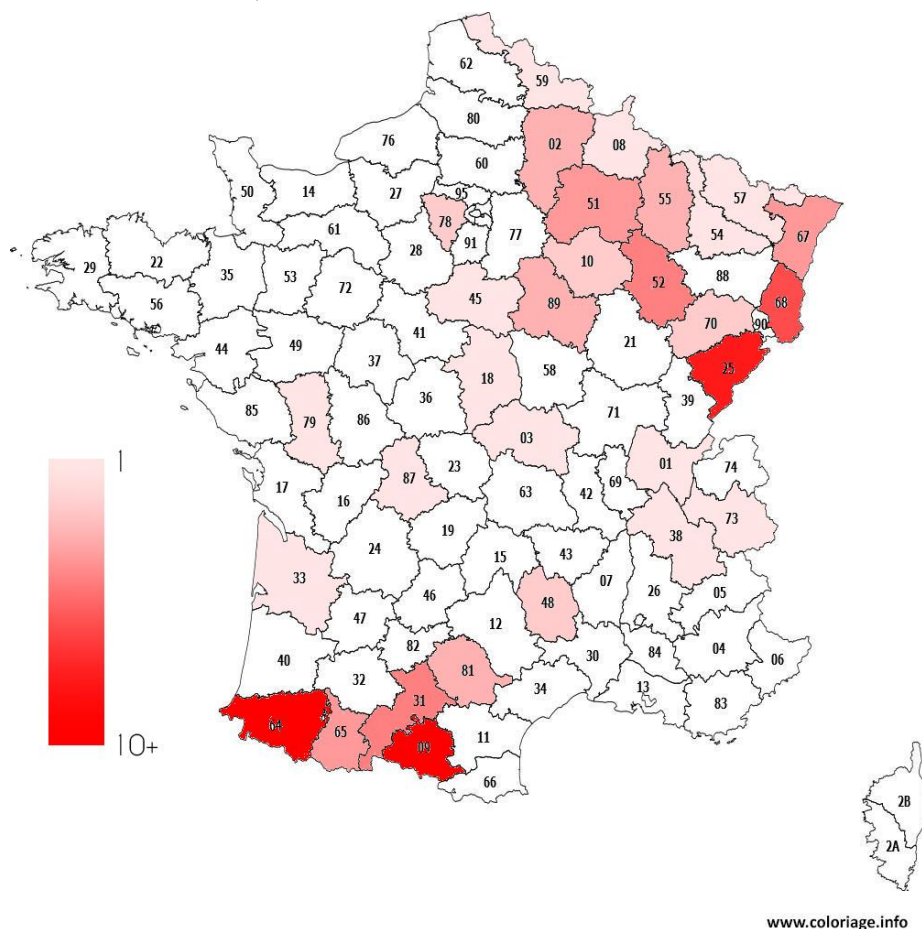
#### 1. REPARTITION TEMPORELLE



**Figure 10 : répartition du nombre de milan reçus pour recherche de toxiques chaque année de l'étude (2013-2020)**

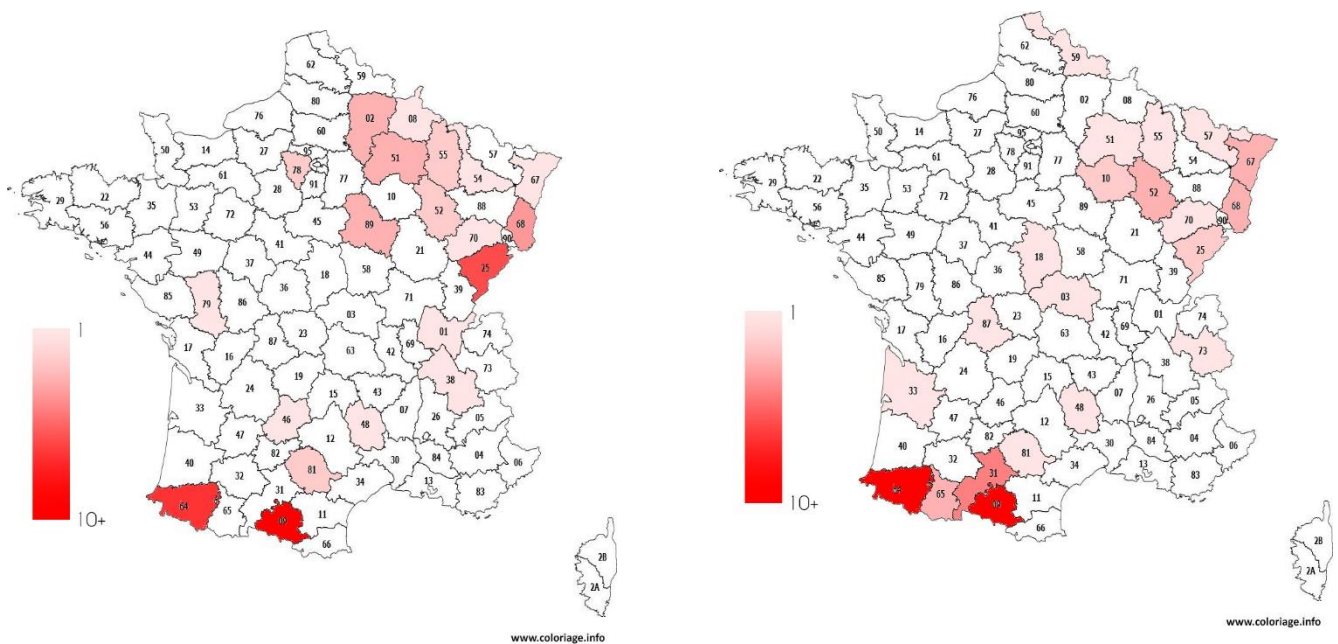
On constate une tendance à l'augmentation du nombre d'échantillons reçus entre 2013 et 2016, puis une stabilisation autour d'une vingtaine de cadavres chaque année depuis 2016.

## 2. ORIGINE GEOGRAPHIQUE



**Figure 11 : départements de découverte des cent quarante-neuf milans royaux.**

Sur cette carte, on retrouve bien deux régions où le milan est présent : Pyrénées et Grand-Est. En revanche, on remarque la quasi-absence d'oiseaux découverts dans le Massif central. D'autres laboratoires d'analyses, en partenariat avec les découvreurs de la région, reçoivent probablement les échantillons associés aux rapaces découverts dans la région. Certains milans ont été découverts en dehors de leur aire de répartition, par exemple en Gironde (33) ou dans les Deux-Sèvres (79). Bien que n'ayant jamais été décrit comme nichant ou hivernant dans le département, la présence de milans sur l'ensemble du territoire Français lors des migrations n'est pas exclue.

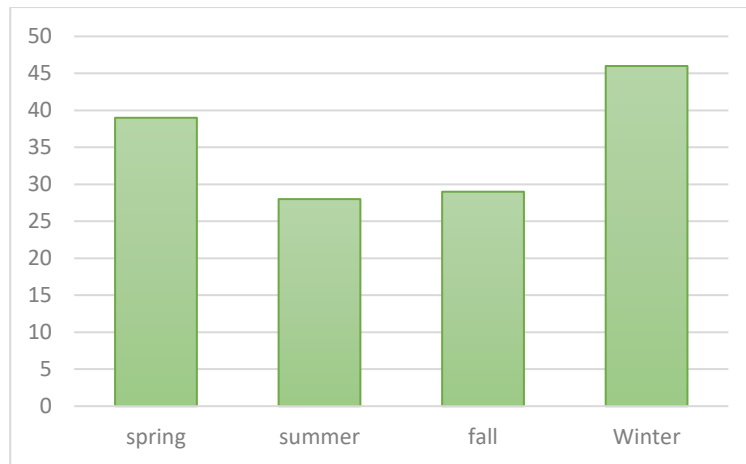


**Figure 12 : Lieux de découvertes des milans reçus pour analyse (période de reproduction à gauche, d’hivernage à droite)**

En dissociant les périodes de reproduction (printemps/été) et d’hivernage (automne/hiver), on constate finalement assez peu de différence entre les saisons. Des cadavres sont découverts toute l’année, dans toute l’aire de répartition du Milan.

Il faut souligner que la découverte des cadavres reposant sur le travail de bénévoles et des équipes du réseau SAGIR et/ou de la LPO, un fort biais de recrutement est présent. La mobilisation du réseau SAGIR pour la conservation du milan royal dans les Pyrénées peut en partie expliquer la découverte d’un nombre important d’animaux décédés dans la région toute l’année, même si l’espèce y est moins présente en période de nidification en théorie. Dans le nord de la France, il apparaît que d’avantage de cadavres sont retrouvés en période estivale, ce qui est cohérent avec le fait que les milans qui se reproduisent dans le nord et l’est de la France ont tendance à majoritairement hiverner dans le sud, même si des dortoirs sont recensés durant l’hiver dans la région. [49]

### 3. REPARTITION DES CAS SUR L'ANNEE



**Figure 13 : Répartition sur l'année des découvertes de cadavres**

Sur les huit années de l'étude rétrospective, des cadavres de milans sont découverts tout au long de l'année, sans prévalence évidente de saison.

Dans une étude précédente, aucun cadavre n'avait été découvert sur les mois de juillet et août sur soixante-deux cadavres et analysés entre 1992 et 2002. [5]

Dans une étude anglaise portant sur les années 1987 à 2007, des cadavres étaient également découverts toute l'année, avec une distribution non-uniforme significative : 77% sont décédés dans la première moitié de l'année (janvier/juillet), dont plus de 50% sur les mois d'avril, mai et juin. [5]

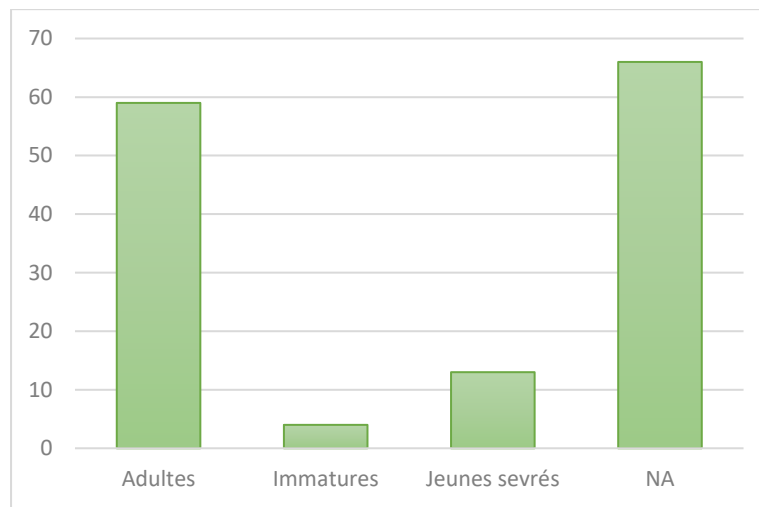
Cependant il faut prendre en compte que les milans sont des rapaces migratoires. Bien qu'historiquement la population de milans royaux de Grande-Bretagne soit sédentaire, la réintroduction sur l'île en 1987 d'individus du continent fait qu'une partie de la population anglaise hiverne plus au sud de l'Europe. L'espèce reste présente en Grande-Bretagne toute l'année, mais les effectifs de population sont variables, avec une augmentation du nombre d'individus présents lors de la période de nidification (février-juillet). [92]

Les milans reçus au laboratoire de toxicologie entre 2013 et 2020 ont été découverts tout au long de l'année, avec une tendance identique aux deux précédentes études : 87 cadavres découverts sur la première moitié de l'année, contre 57 sur la période « été-automne ».

Cette tendance est toutefois à modérer par le fait qu'en France également, les milans royaux sont plus nombreux en période de nidification qu'en période d'hivernage.

#### 4. AGE ET SEXE

Pour chaque Milan analysé, les découvreurs ont précisé l'âge et le sexe de l'animal découvert, si celui-ci était connu, ainsi que la date et le département de découverte.



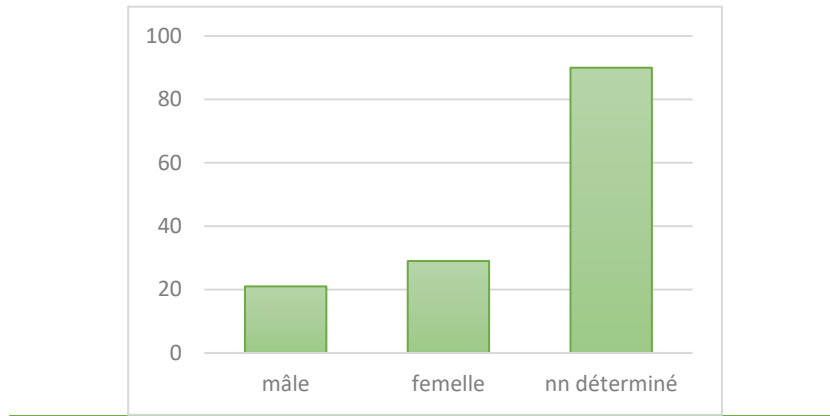
**Figure 14 : Répartition des milans royaux reçus entre les différentes tranches d'âge**

L'évolution du plumage des individus au cours de la croissance permet au découvreur de faire la distinction entre un adulte, un jeune encore au nid « immature » et un jeune dans ses premières années de vie « jeune sevré ». Cependant, certains découvreurs bénévoles ne font pas forcément la distinction entre les différentes classes, et parfois l'état de décomposition avancé du cadavre ne le permet pas non plus.

Dans une étude anglaise, un nombre équivalent (n=62) d'adultes et de jeunes sevrés ont été collectés et analysés sur la durée de l'étude, ce qui n'est pas le cas ici.

Il n'existe pas de dimorphisme sexuel chez le Milan Royal, en dehors d'une légère différence de taille qui n'est pas forcément facile à objectiver sur un cadavre. Il n'est donc pas aisé pour le découvreur de spécifier le sexe du milan. Celui-ci peut parfois être précisé lors de l'autopsie si l'état de conservation du cadavre le permet.





**Figure 15 : Milans mâles et femelles reçus pour analyse**

Ici, le sexe de la majorité des individus n'a pas été déterminé (ou bien n'a pas été transmis au laboratoire). Parmi les individus identifiés, la mortalité est équivalente chez les deux sexes (p-value = 0,25).

#### **B. GENERALITES SUR LES MILANS VICTIMES D'INTOXICATIONS**

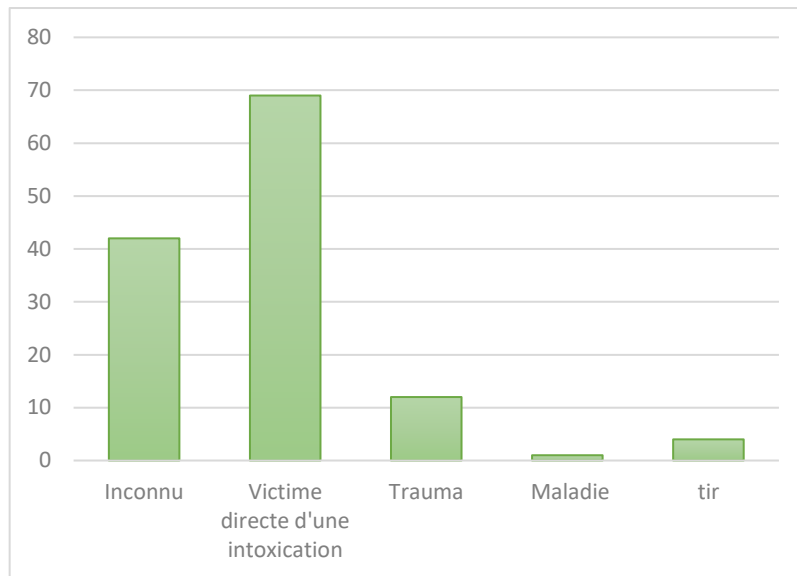
Les cent trente-neuf milans reçus pour analyse peuvent être classés en trois catégories :

- Une intoxication est mise en évidence comme la cause directe de la mort : la quantité de toxique retrouvée dans les échantillons analysés est compatible avec une dose létale.

- Une intoxication a pu favoriser le décès de l'oiseau

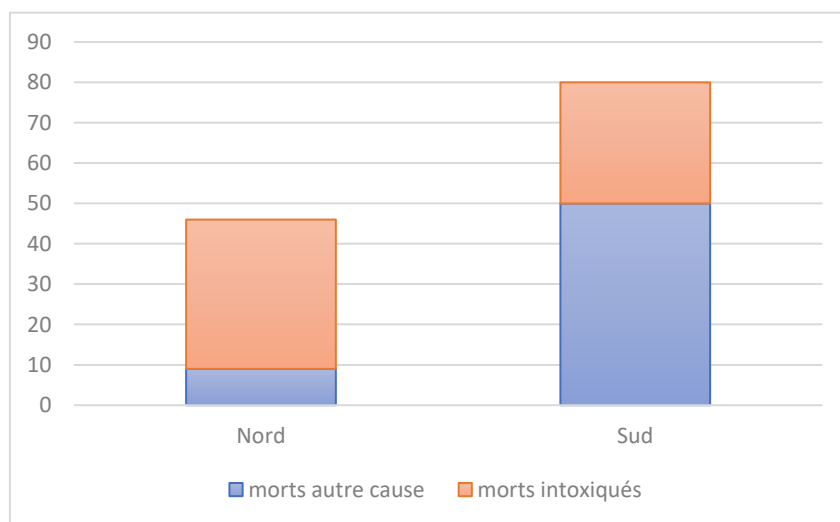
- Aucun toxique n'a été retrouvé en quantité compatible avec un effet clinique.

Les causes précises du décès ne peuvent pas toujours être mises en évidence à l'autopsie, mais ont été précisées lorsque cela était possible.



**Figure 16 : Cause de décès présumée des milans reçus pour analyse**

Parmi les milans royaux reçus, il est possible pour la majorité d'entre eux de relier la cause du décès à une intoxication. Rappelons que ces échantillons sont adressés par le SAGIR au laboratoire en cas de suspicion d'intoxication, il existe donc un biais de sélection des individus en faveur des oiseaux empoisonnés, et ces causes de mortalités ne sont pas représentatives de la population globale de milans en France.



**Figure 17 : comparaison du nombre de milans victime d'intoxication par rapport aux autres causes de décès, dans le Nord et le Sud de la France.**

Considérant notre population d'étude, cinq juvéniles ont été victimes d'une intoxication létale contre trente-sept adultes, ce qui ne représente pas une différence significative (p-value = 0,11).

Géographiquement, il est possible de séparer les milans en deux groupes : Nord-Est (départements 02, 08, 10, 25, 51, 51, 52, 54, 57, 59, 66, 67 et 70) et Sud-Ouest (départements 09, 31, 64, 65, 81).

En comparant les milans victimes d'intoxication dans ces deux zones géographiques, il apparait que les intoxications sont la cause de mortalité principale des milans dans le nord de la France, par rapport au sud de la France (test du  $\chi^2$ , p-value < 0,05).

Il faut cependant considérer que tous des cadavres de milans découverts ne sont pas adressés au laboratoire : chaque département commande les autopsies et les analyses des cadavres en fonction du budget alloué, et grâce à l'action Vigilance Poison coordonnée depuis quinze ans par la LPO, le Parc National des Pyrénées et en particulier le Dr Lydia Vilagines, les départements des Pyrénées commandent plus régulièrement des screening toxicologiques, là où les départements du nord-est n'envoient des tissus pour analyse toxicologique que lorsque la suspicion est très élevée.

Il existe donc un biais de sélection pour les cadavres récoltés hors des Pyrénées.

### C. INTOXICATIONS AUX POLLUANTS ORGANIQUES NON PERSISTANTS

En treize ans, cinquante-six intoxications aux pesticides ont été enregistrés.

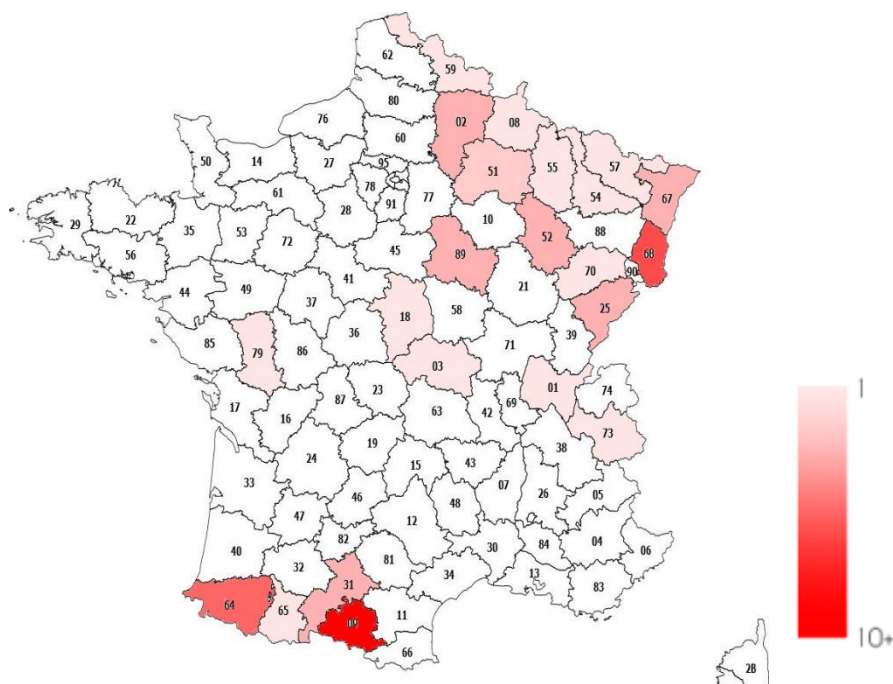
#### 1. PREDISPOSITION D'AGE ET DE SEXE

Avec treize mâles pour huit femelles (le reste des individus étant de sexe indéterminé), l'étude ne permet pas de mettre en évidence une prédisposition liée au sexe (p-value = 0,27).

Parmi les oiseaux dont l'âge a été renseigné, vingt-sept adultes et deux jeunes sevrés ont été victimes d'appâts malveillant, ce qui ne représente pas une différence significative avec le reste de la population (p-value = 0,08), mais une tendance qui montre toutefois que les jeunes rapaces pourraient être moins impactés que les adultes.

## 2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

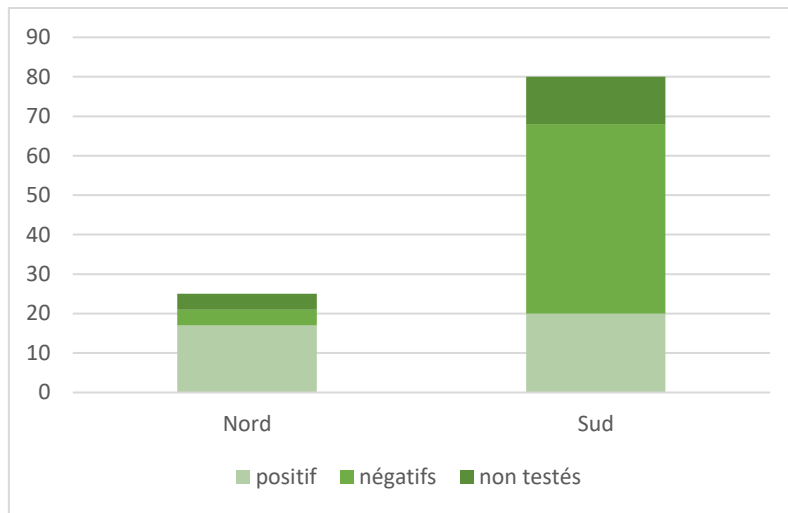
Sur la carte ci-dessous sont reportées les départements de découvertes des cadavres pour lesquels une intoxication au carbofuran a été reportée.



**Figure 18 : départements d'origine des Milans présentant une intoxication clinique au carbofuran**

On y retrouve les deux régions précédemment identifiées sur les cartes situant l'ensemble de la population : Nord-Est et Pyrénées.

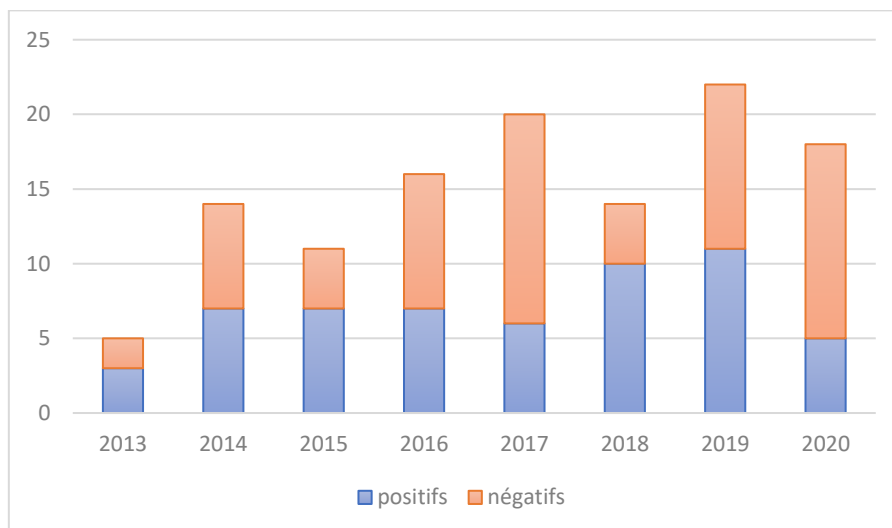
Dans le Nord-Est, on remarque un nombre important de milans en provenance du Haut-Rhin, Bas-Rhin : treize milans sur vingt-et-un proviennent de ces trois départements, mais le nombre d'individus est trop faible pour confirmer la tendance.



**Figure 19 : Part de Milans positifs, négatifs et non testés pour les organophosphorés et carbamates dans le Nord-Est de la France et les Pyrénées.**

Proportionnellement, d'après les données précédentes, les pesticides et en particulier le carbofuran sont plus fréquemment détectés chez les rapaces analysés dans le Nord que dans le Sud de la France ( $p$ -value < 0,05)

### 3. REPARTITION TEMPORELLE



**Figure 20 : nombre de rapaces positifs par rapport au nombre total de Milans dépistés entre 2013 et 2020**

Aucune tendance générale ne semble se dégager des dix dernières années, bien que certaines semblent plus (2018) ou moins (2017,2020) impactées par les organophosphorés

et carbamates. En raison du faible nombre de Milans reçus, ces résultats sont avant tout le reflet des efforts de prospection des bénévoles du réseau SAGIR et de la LPO (entre autres).

#### 4. LIEUX DE DECOUVERTE

Tableau IX : lieu de découvertes des Milans positifs aux organophosphorés ou aux carbamates

Cultures	19
Non Précisé	12
Friche	8
Prairie	8
Bois	3
Zone Humide	3
Route	2
Parc	1

La rapidité d'action du carbofuran ou de l'aldicarbe fait que les oiseaux sont régulièrement retrouvés a proximité immédiate des appâts.

Contrairement aux autres toxiques, pour lequel aucun lieu ne ressort particulièrement, les oiseaux victimes du carbofuran sont majoritairement découverts dans des cultures (p-value < 0,05).

#### 5. SIGNES CLINIQUES

Le tableau suivant récapitule les lésions autopsiques constatées sur les milans intoxiqués au carbofuran :

Tableau X : Nombre d'occurrence des différentes lésions autopsiques rapportées

Environnement	Contenu digestif suspect	8
	Appât	2
Oiseau en mauvais état général	Amaigrissement, parasites	3
Oiseau en bon état général	Mort Subite	24
Oiseau retrouvé vivant	Prostration	2
	Hypersalivation	2
	Congestion des muqueuses	1
	Régurgitations	1
	Convulsion	1
Trauma	Hémorragie	12
	Fracture	4

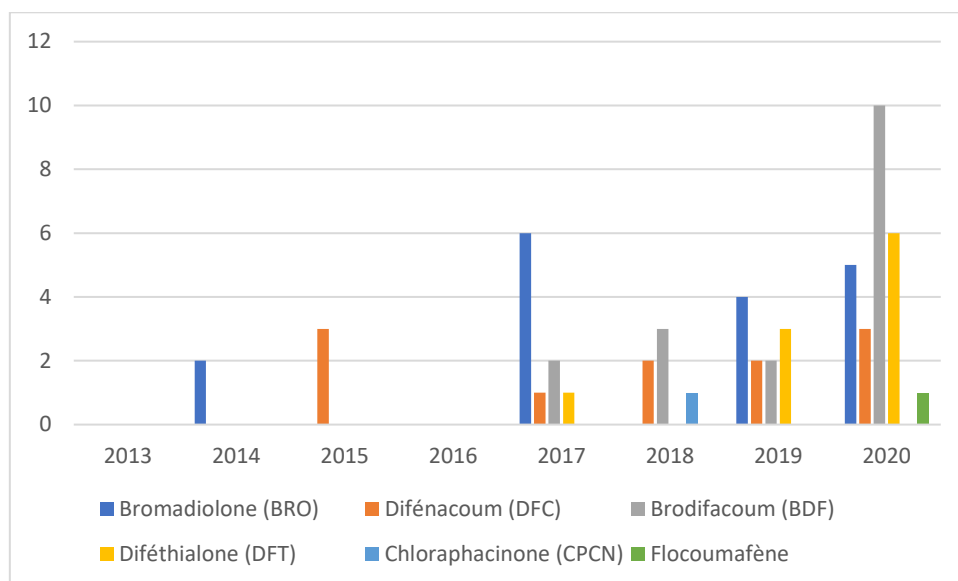
Parmi les oiseaux décédés d'une intoxication au carboduran, un cas de temps de coagulation augmenté a également été signalé, non rapporté ici car associé à une forte intoxication aux anticoagulants rodenticides.

Pour les rares oiseaux retrouvés vivants (ou agonisants), les signes cliniques décrits concordent avec ceux attendus dans la littérature : hypersalivation, régurgitations, convulsions.

L'absence de lésion à l'autopsie est constatée sur un grand nombre de cadavres (n=24), cependant un nombre non négligeable ont également été victimes de trauma après l'ingestion (n=12).

#### D. INTOXICATIONS AUX RODENTICIDES ANTICOAGULANTS

Soixante-dix-huit milans ont été reçus et analysés sur la période d'étude : au total, trente-six sont positifs et quarante-deux sont négatifs.

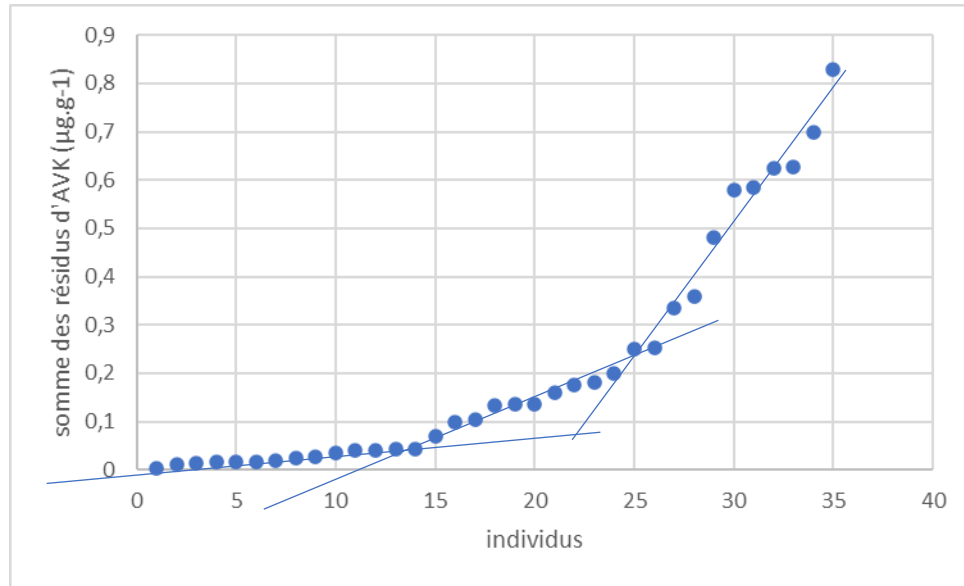


**Figure 21 : Nombre d'occurrence pour chaque anti-coagulant entre 2013 et 2020**

Les substances les plus représentées sont donc la Bromadiolone (17), le Brodifacoum (17), le Difénacoum (11), la Diféthialone (10). La bromadiolone et le brodifacoum sont les deux molécules les plus souvent retrouvées comme toxique principal, avec treize Milans pour chaque.



## 1. DOSE MESUREE ET INTOXICATION



**Figure 22 : Nombre d'occurrences pour chaque rodenticide anti-coagulant entre 2013 et 2020**

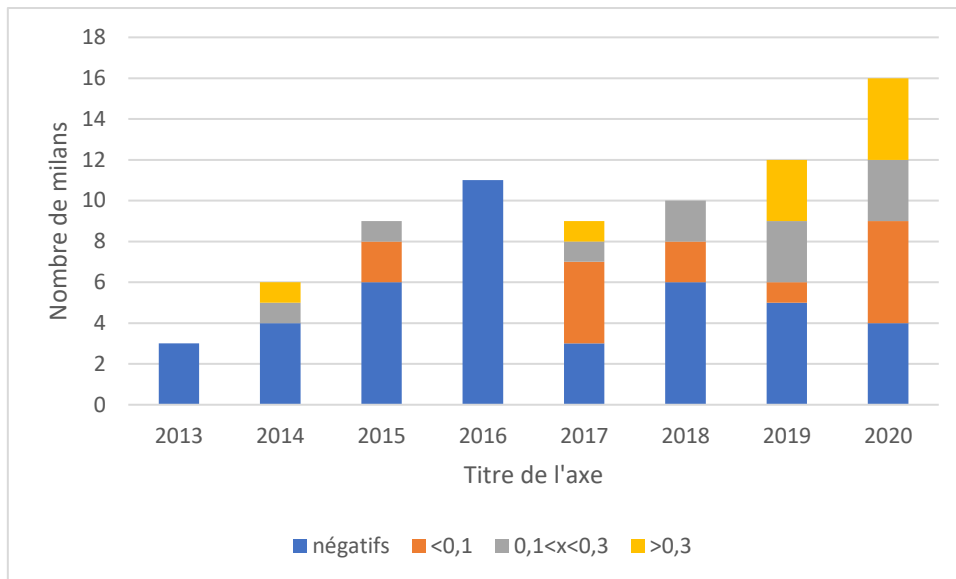
La pente de la courbe semble rendre possible la séparation des Milans positifs en trois groupes de taille à peu près égale :

-Dans le premier groupe, ceux dont la somme des résidus reste inférieure à  $0,1 \mu\text{g.g}^{-1}$  de ms

-Dans le second groupe, ceux dont la somme des résidus est comprise entre  $0,1$  et  $0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$  de ms

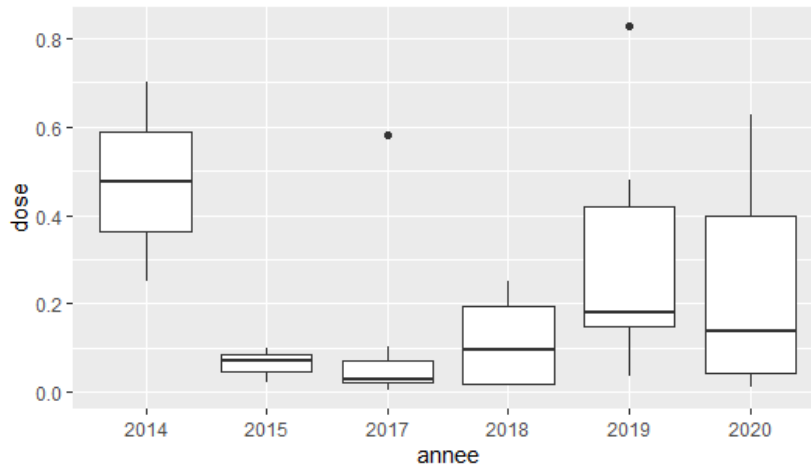
-Dans le troisième groupe, ceux dont la sommes des résidus est supérieure à  $0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$  de ms

Le graphique suivant présente le nombre de test réalisés, et la part de tests positifs répartis dans les trois groupes précédemment notés :



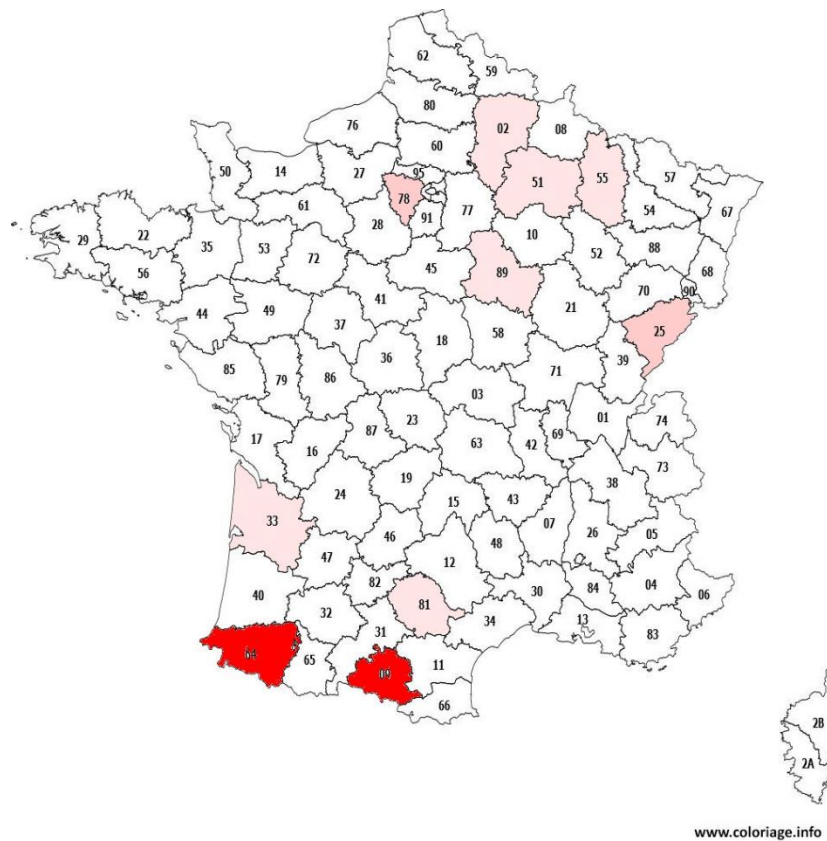
**Figure 23 : nombre de milans négatifs, faiblement positifs, moyennement positifs et fortement positifs aux anticoagulants entre 2013 et 2020**

Le nombre d'individus analysés chaque année est trop faible pour dégager des différences significatives, cependant la tendance semble être à l'augmentation du nombre d'analyses demandées chaque année.



**Figure 24 : Représentation « box plot » des doses de rodenticides mesurées chez les Milans entre 2013 et 2020.**

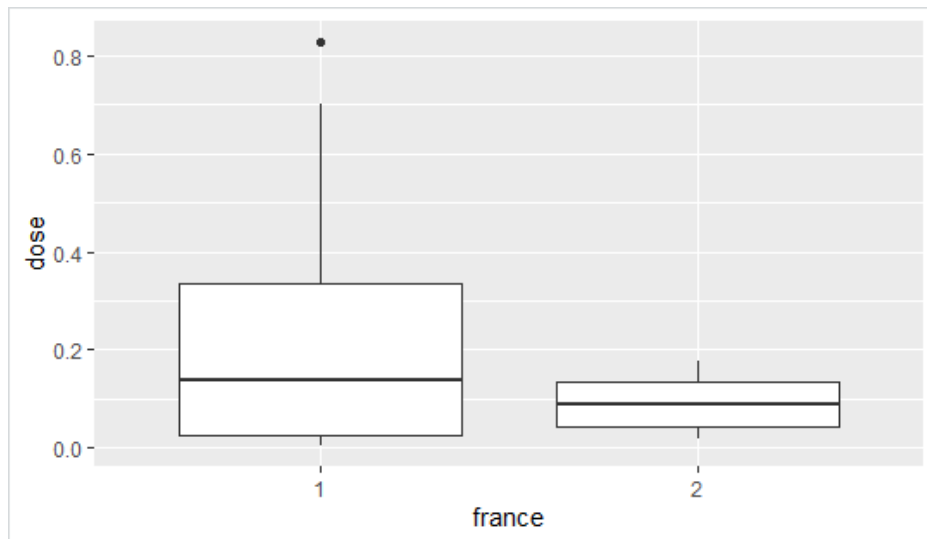
## 2. REPARTITION SPATIALE DES CAS



**Figure 25 : Répartition des cas positifs aux anticoagulants rodenticides par département**

Le graphe suivant représente les quantités d'anticoagulants retrouvées, dans les Pyrénées et dans le reste de la France.

Malgré un nombre et un étalement des valeurs plus important pour le Sud de la France, les médianes restent sensiblement proches



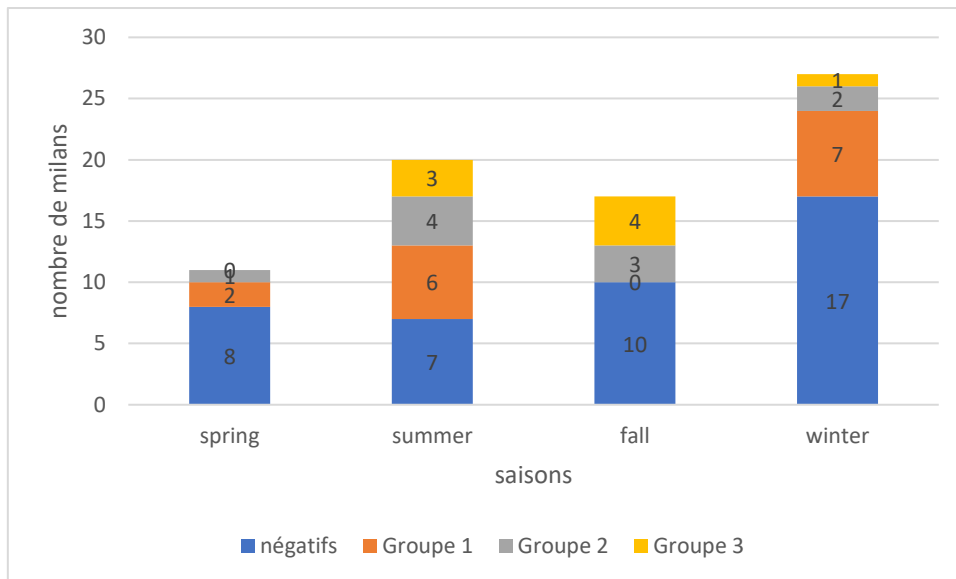
**Figure 26 : Représentation en « boxplot » des traces d'anticoagulants retrouvés chez les Milans dans le Sud (1 ; n=25) et le reste de la France (2 ; n=9)**

Les individus positifs comptent neuf mâles pour huit femelles, les autres étant indéterminés,

Sept jeunes sevrés pour vingt et un adultes ont été identifiés, ce qui ne représente pas une différence avec notre population d'étude ( $p$ -value = 0,22)

### 3. REPARTITION TEMPORELLE

Le graphique en barre qui suit présente le nombre de Milans testés, dont ceux négatifs, et positifs répartis entre les trois différents groupes décrits plus hauts.



**Figure 27 : nombre de milans négatifs, faiblement positifs, moyennement positifs et fortement positifs aux anticoagulants selon les saisons.**

Les Milans sont significativement plus souvent victime des anticoagulants en été, bien qu'ils aient été plus testés en hiver (p-value = 0,02).

Le printemps et l'hiver semblent être les saisons où les Milans sont les moins impactés par les anticoagulants rodenticides.

#### 4. SIGNES CLINIQUES

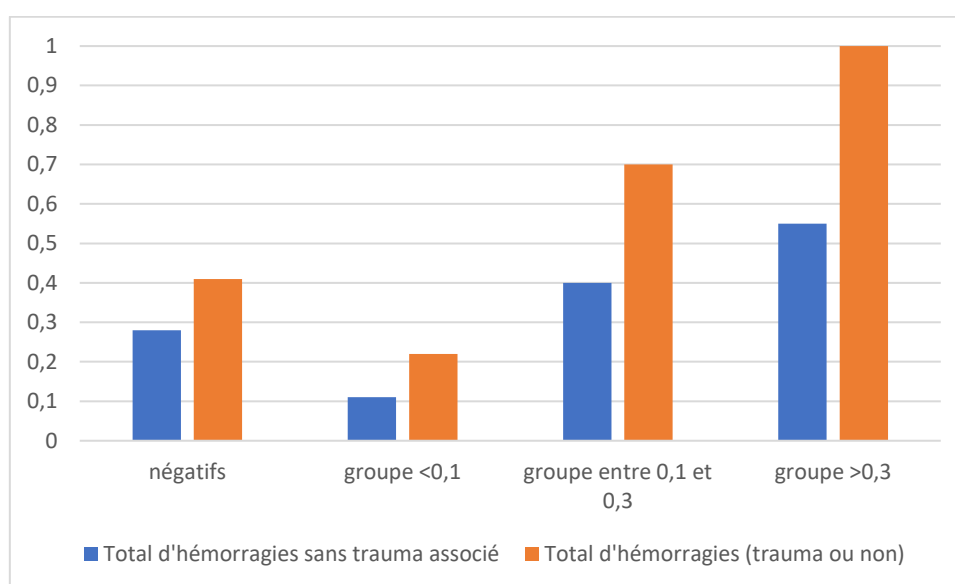
Connaissant le mode d'action des anti-coagulants rodenticides, le choix a été fait de se concentrer uniquement sur les lignes cliniques susceptibles d'être mis en lien avec ces molécules, soit :

Mention d'une fracture sans mention d'une hémorragie, mention d'une hémorragie en lien avec un trauma, sans lien évoqué avec un trauma, avec des temps de coagulation augmentés, qui sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XI : récapitulatifs des signes cliniques et lésions d'autopsies (en %) mentionnées avec les cadavres reçus pour recherche d'anticoagulants, selon les groupes pré-établis.

	Trauma sans hémorragie	Hémorragie associée à un trauma	Hémorragie sans trauma	Temps de coagulations augmentés
Négatifs	0,13	0,13	0,28	0
groupe <0,1	0,23	0,11	0,11	0
groupe entre 0,1 et 0,3	0,2	0,2	0,1	0,3
groupe >0,3	0	0,22	0,33	0,22

La figure qui suit reprend le nombre total d'hémorragies constatées chez les oiseaux négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs :



**Figure 28 : récapitulatif du nombre total d'hémorragies rapportées pour chaque groupe de Milan**

## E. INTOXICATION AUX ETM

Au total, soixante-deux milans ont été reçus pour une analyse des résidus de plomb contenus dans les tissus hépatiques et/ou rénaux. Dans la majorité des cas, des fragments de foie et de reins sont envoyés

Dans six cas, seul un échantillon de tissu hépatique a été acheminé jusqu'au laboratoire. Quatre milans supplémentaires ont été reçus pour une analyse seule du plomb osseux.

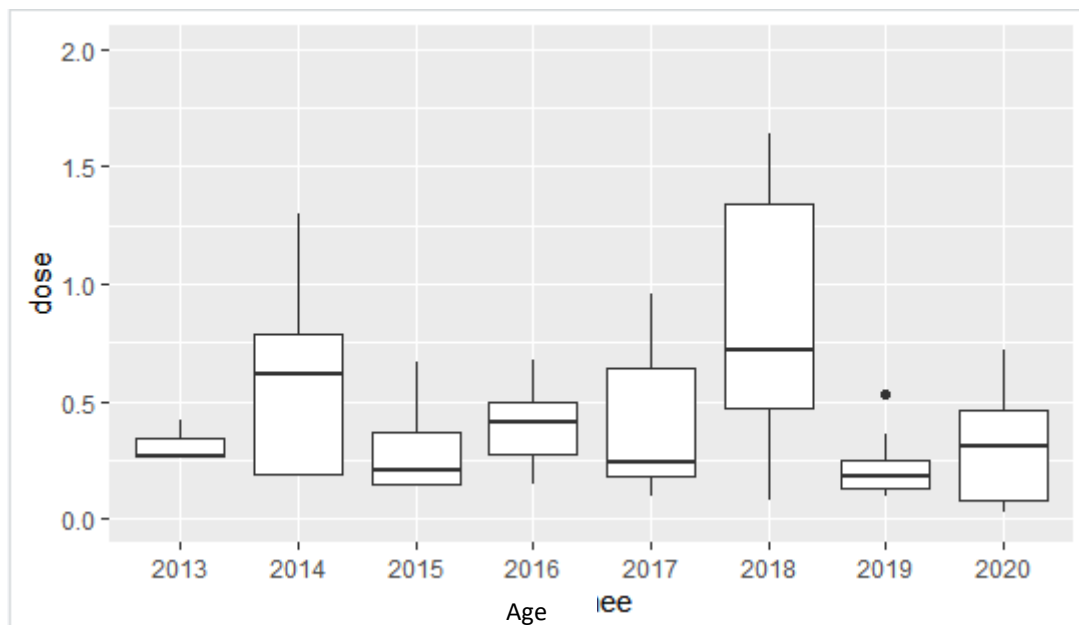
Dans la quasi-totalité des cas, les screening plomb et cadmium sont demandés conjointement. Pour six milans seulement, un screening plomb a été réalisé sans être doublé par un screening cadmium.

Aucun screening cadmium n'a été commandé sans recherche de plomb associé.

#### 1. PROVENANCE GEOGRAPHIQUE

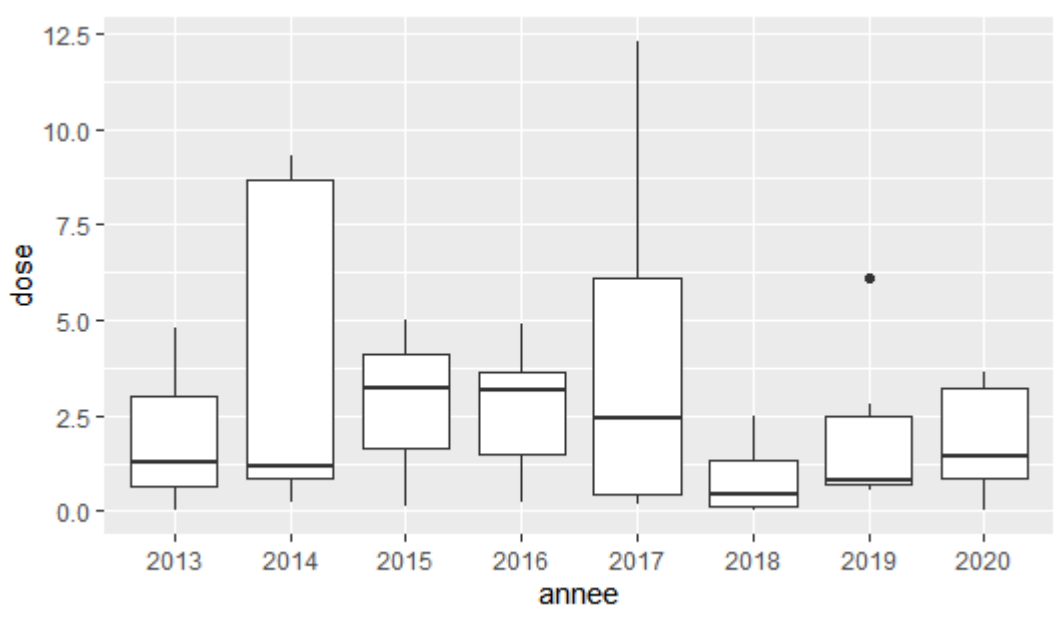
Les Milans reçus pour une recherche d'ETM proviennent pour 90% d'entre eux des départements 09, 64, 65 et 31, soit des Pyrénées. Les cinq Milans restant sont décédés dans les départements du nord de la France : 51, 52 et 55.

#### 2. REPARTITION TEMPORELLE



**Figure 29 : Quantité de plomb hépatique en  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de matière sèche chez les milans reçus entre 2013 et 2020 (les valeurs supérieures à  $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$  sont hors échelle),  $3 < n < 11$  selon les années**

Les valeurs extrêmes n'apparaissant pas sur le graphique, celui-ci reflète avant tout la contamination environnementale des milans morts d'autres causes. Il apparaît que cette contamination environnementale varie d'une année à l'autre, cependant le nombre d'individus reçu chaque année est trop faible pour en dégager une différence statistiquement significative (nmax = 11)



**Figure 30 : Quantité de cadmium rénal en  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de matière sèche chez les milans reçus entre 2013 et 2020**

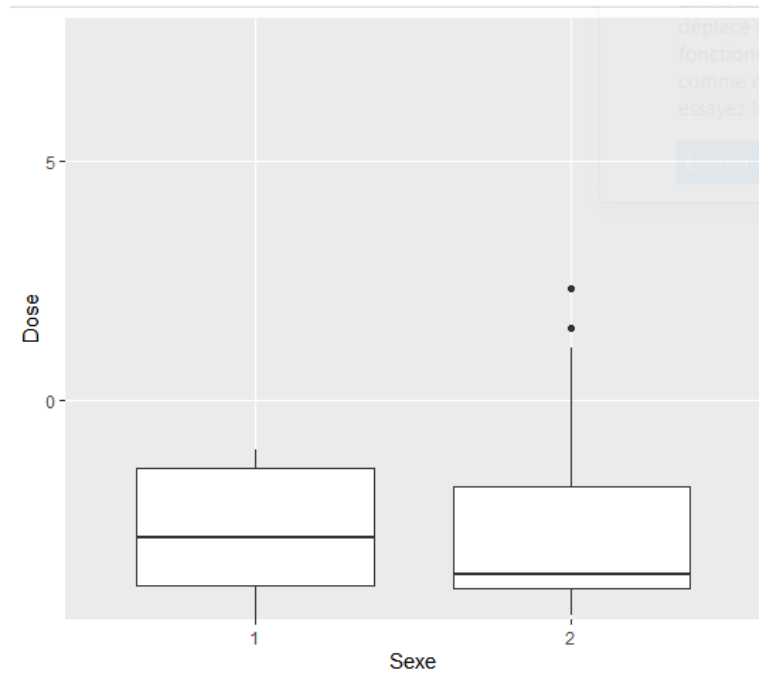
Les mêmes constatations se font pour les intoxications au cadmium entre 2013 et 2020.

### 3. MORTALITE

Le plomb a pu être identifié comme cause principale ou cause probablement impliquée dans la mort de l'oiseau chez sept individus (10,9 % des cas).

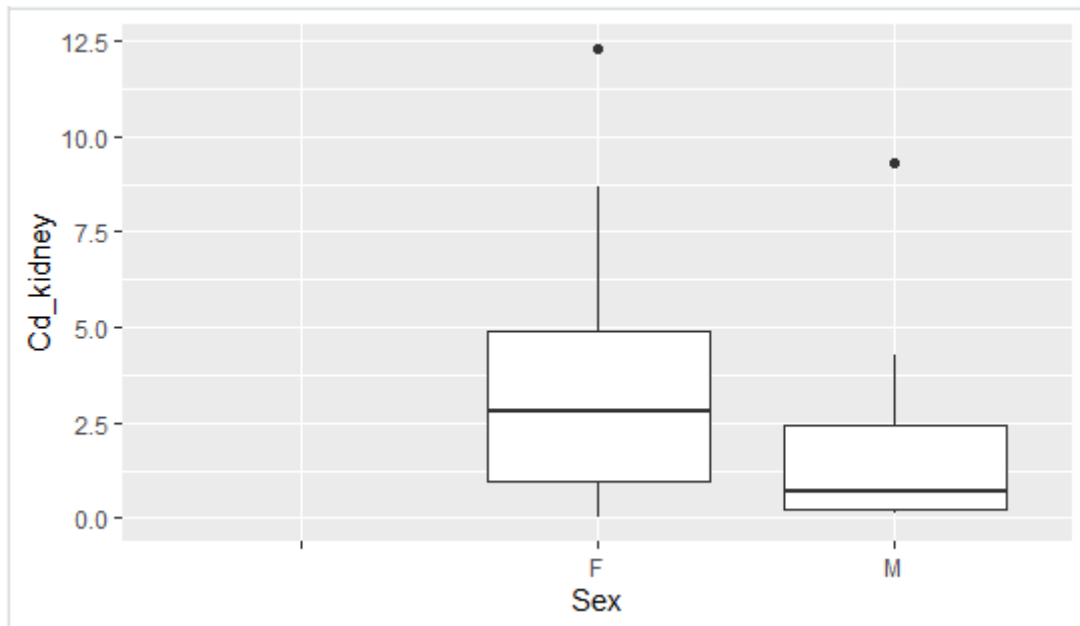


#### 4. PREDISPOSITIONS DE SEXE



**Figure 31 : représentation « boxplot » des doses de plomb mesurées dans le foie des femelles (1 ; n=21) et mâles (2 ; n=16)**

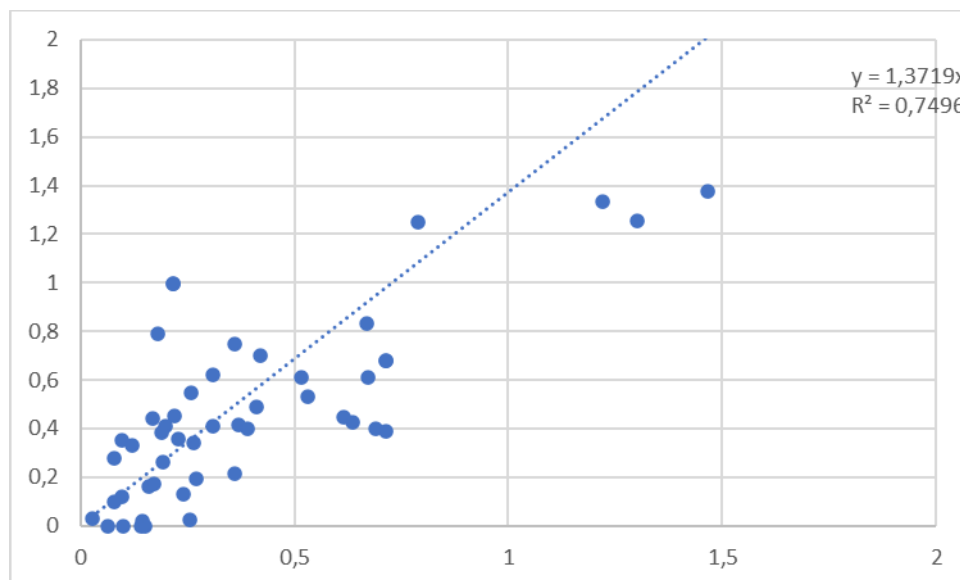
La quantité de plomb retrouvée chez les mâles n'est pas significativement différente de celle mesurée chez les femelles. Ci-dessous, une représentation graphique équivalente est proposée pour le cadmium :



**Figure 32 : représentation « boxplot » des doses de cadmium mesurées dans le rein des femelles (F ; n=18) et mâles (M ; n=14)**

Dans le cas du cadmium, la différence n'est pas non plus significative, mais la p-value est proche de 0,05 (0,054). La tendance, si elle ne peut être confirmée avec certitude, serait d'une contamination plus importante des femelles au cadmium. à=à

##### 5. CORRELATION ENTRE CONTAMINATION RENALE ET HEPATIQUE

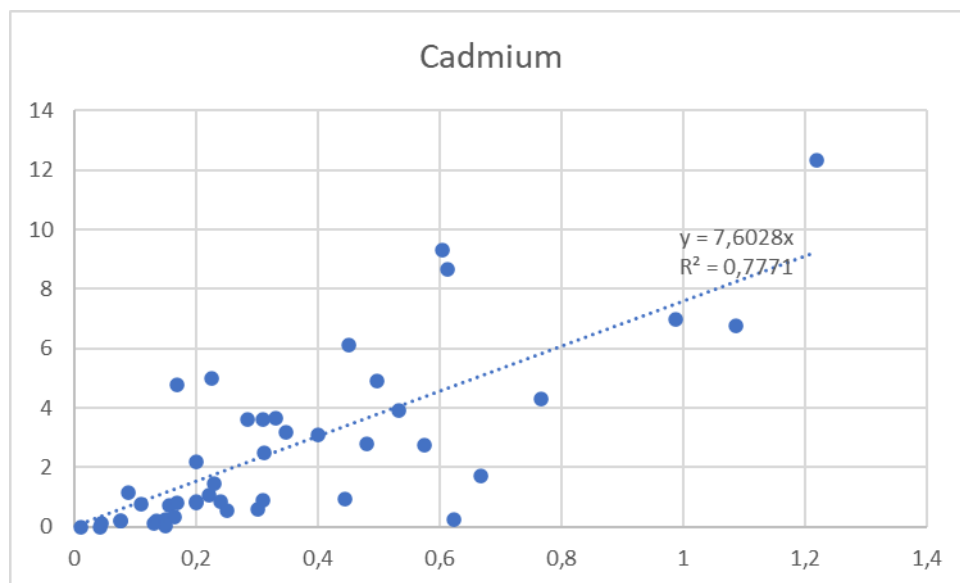


**Figure 33 : rapport entre le plomb rénal (y) et le plomb hépatique (x), valeurs extrêmes exclues**

De cette représentation ressort une corrélation modérée entre la quantité de plomb retrouvée dans le foie et le rein. La quantité de plomb mesurée dans les deux organes est proche (1,37 fois supérieure)

Cela est cohérent avec le fait que le plomb se répartit dans l'organisme par voie sanguine dans les organes les plus irrigués (foie, rein).

Dans le cas du cadmium, une corrélation existe également :



**Figure 34 : rapport entre le cadmium rénal (y) et le cadmium hépatique (x)**

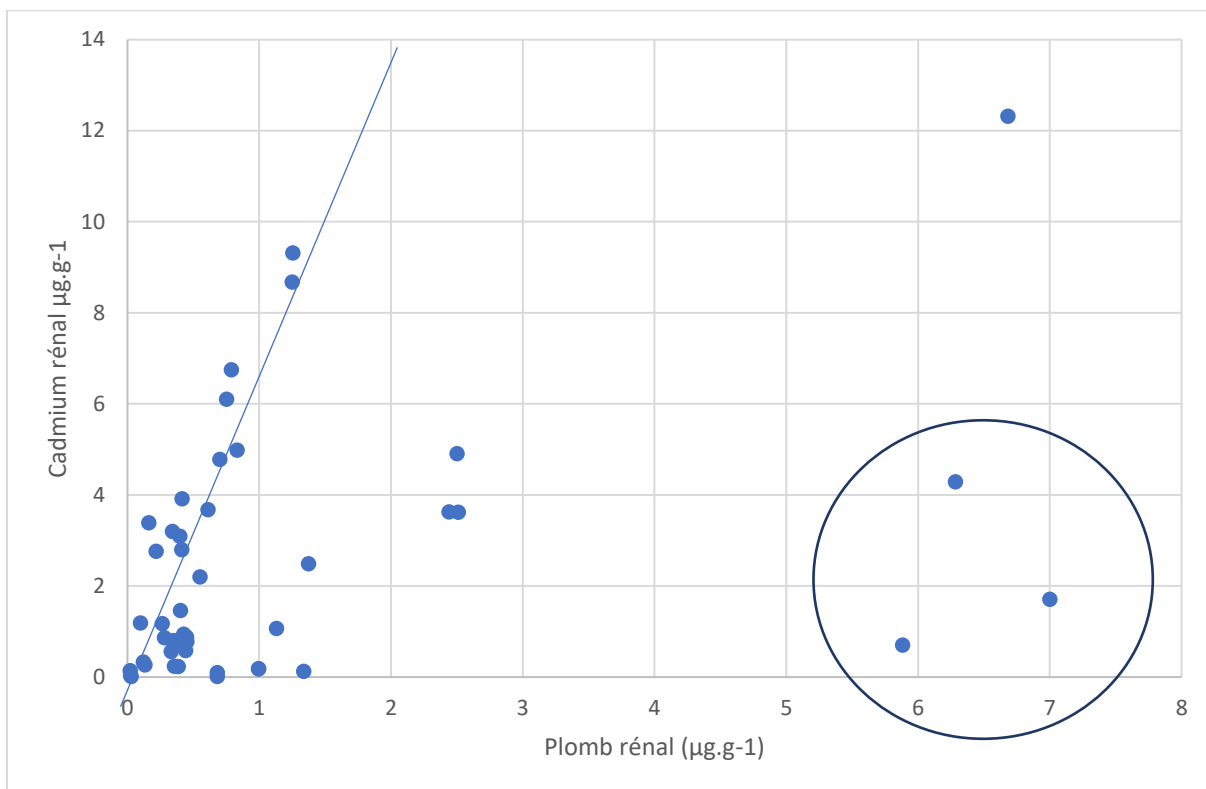
Le nuage de point semble montrer une corrélation moins claire que pour le plomb, avec en particulier des valeurs de cadmium rénal basse (<2  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) pour des valeurs hépatiques modérées (>0,4 $\mu\text{g.g}^{-1}$ ).

### **Corrélation cadmium/plomb**

En observant les données, il est apparu que de nombreux milans présentant des taux de plomb rénal élevé avaient également des taux élevés de cadmium rénal.

Cela est assez surprenant dans la mesure où les sources de contamination ne sont a priori pas les mêmes, et n'a jamais été noté par un autre auteur.

Cette corrélation ne se retrouve pas dans le foie.



**Figure 35 : corrélation entre les taux de plomb et de cadmium rénal**

Certains points (cercle bleu) semblent invalider cette tendance, toutefois il a déjà été mentionné que la contamination aux ETM pouvait causer des néphropathies sévères, diminuant fortement la rétention des ETM par le rein une fois les tubules endommagés.

### III. DISCUSSION

#### A. BIAIS ET LIMITES DE L'ETUDE

Tous les résultats obtenus dans cette étude sont à analyser avec précaution. Les échantillons reçus au laboratoire n'étant pas, comme cela été précédemment mentionné, un échantillon représentatif des décès de milans en France.

La collecte des cadavres de milans est passive et opportuniste : seuls les cadavres découverts (souvent par hasard, parfois grâce à leur balise GPS) sont susceptibles d'être autopsiés (augmentant ainsi le nombre de cadavre en provenance de zones urbaines et rurale par rapport aux décès dans des biotopes moins accessibles).

Sur les cadavres collectés, tous ne sont pas envoyés pour un screening toxicologique. Dans la majorité des cas, les demandes d'analyse ne sont faites que lorsqu'il y a une forte suspicion d'intoxication (hémorragie importante, découverte du corps a proximité d'un appât...).

De plus, il faut prendre en compte que l'évolution des techniques de détection des anticoagulants rodenticide a permis d'abaisser les seuils de détection. Ainsi entre 2013 et 2020, le nombre d'anticoagulants recensés dans les Milans analysés augmente ; cela est le reflet de cette amélioration des techniques de mesure.

Enfin, le nombre d'individus collecté reste assez faible et fait que les analyses statistiques effectuées doivent être considérées avec prudence.

## B. PESTICIDES

### 1. DOSES DETECTEES ET MODES DE CONTAMINATION

Au contraire des autres toxiques, lors d'intoxication aux pesticides la cause de la mort peut presque toujours être directement reliée à l'ingestion du pesticide. Celui-ci est retrouvé en quantité importante dans le contenu du gésier, parfois l'oiseau est découvert mort à côté de l'appât, la viande encore dans le bec.

Chez deux oiseaux seulement, le pesticide (carbofuran dans les deux cas) a été détecté en très faibles quantité et le rôle de ce dernier dans la mort de l'animal reste douteuse. Cela pourrait être lié à l'envoi d'un échantillon de tissu trop altéré, ou bien à une consommation indirecte du pesticide par le milan, par exemple consommation en faible quantité du cadavre d'un autre prédateur, ayant lui ingéré un appât (renard, chat, autre rapace...)

### 2. SIGNES CLINIQUES

Douze des soixante-quatre oiseaux positifs au carbofuran présentait des hémorragies, associé à des fractures pour quatre d'entre eux. La littérature ne fait pas mention d'une relation entre organophosphorés/carbamates et hémorragies. Il est probable que l'intoxication rapide soit à l'origine de trauma chez ces oiseaux : chute, collision avec un bâtiment ou un véhicule...

La lésion la plus fréquemment rapportée, est justement l'absence de lésion présente à l'autopsie. Les victimes de pesticides sont pour une très grande majorité des oiseaux en bon état général.

On pourrait pourtant s'attendre à constater que des oiseaux amaigris, malades ou affaiblis, soient victimes d'appâts qui se présentent sous la forme de charognes facilement disponible. Cependant, le caractère opportuniste et charognard du milan le rend possiblement plus susceptible que d'autres rapaces à consommer des appâts, ce qui expliquerait le grand nombre d'oiseaux en bonne condition générale. Une étude comparative avec d'autres espèces serait nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

### 3. ENJEUX DE PROTECTION

Les organophosphorés et les carbamates sont les toxiques les plus recherchés sur les Milans, et ce partout en France.

Cela peut s'expliquer par le fait que la détection de ces molécules interdites en Europe depuis 2008 permet d'intenter des poursuites judiciaires.

Proportionnellement, d'après les données précédentes, les pesticides et en particulier le carbofuran sont plus fréquemment détectés chez les rapaces analysés dans le Nord que dans le Sud de la France ( $p\text{-value} < 0,05$ ). Deux explications peuvent être avancées :

- Une réelle prévalence des empoisonnements volontaires à l'aide d'appâts dans le Nord-Est de la France ; où la densité de population et les surfaces cultivées sont plus importante que dans les Pyrénées et entraînent une concurrence plus forte avec les corvidés et autres carnivores.
- Soit un biais de recrutement des rapaces émanant du Nord-Est de la France, où des recherches de toxiques ne sont réalisées que lorsqu'il existe une forte suspicion d'intoxication aux organophosphoré/carbamates et que la confirmation par un laboratoire est indispensable pour une éventuellement action en justice.

Dans tous les cas, le nombre de rapaces victimes d'empoisonnements malveillants dans les départements du Nord-Est de la France révèle l'enjeu qu'est la protection de ces rapaces dans nos régions.

Dans les Pyrénées, où peu de terres sont exploitées par l'agriculture, il semble probable que la mise en place d'appâts malveillants soit davantage en lien avec la chasse. Le Sud-Ouest de la France est une région où la chasse au petit gibier est très présente, et par ailleurs la région de France où il se vend le plus de permis de chasse. Les carnivores (renards, fouines, rapaces) sont considérés comme des rivaux pour les activités de chasse, en particulier en automne lors des lâchers de faisans et perdreaux, qui sont des proies faciles pour les carnivores.

On peut également noter qu'en raison de la présence controversées du loup et de l'ours dans les Pyrénées, ces appâts pourraient leur être également destinés.

Sur les dix-neuf oiseaux retrouvés dans des zones cultivées, seize l'ont été dans le Nord-Est de la France. Il apparaît possible que le dépôt volontaire d'appâts soit relié à la lutte contre les dégâts faits aux cultures dans la région.

Le Nord-Est de la France, et en particulier le Haut-Rhin et le Bas-Rhin, sont les départements de France dans lesquels le moins de permis de chasse sont vendus. Ce sont également les départements français dans lesquels sont le plus constatés de dégâts de gibier sur les cultures.

Il est donc envisageable que les milans soient les victimes de tentatives d'empoisonnement de sangliers ou de corvidés.

## C. RODENTICIDES

### 1. SUBSTANCES DETECTÉES ET CONCENTRATIONS MESURÉES

Parmi les raticides les plus détectés, la bromadiolone est la seule de ces quatre substances à être employée dans les cultures.

La consommation de campagnols eux-mêmes intoxiqués a toujours été incriminée dans les intoxications des rapaces. Cependant, nous trouvons intéressant de rappeler que lorsqu'un champ est traité, les lombrics (*E. fetida*) sont également sensibles à la bromadiolone, soit par intoxication directe sur les appâts, soit lorsqu'ils évoluent dans un sol contaminé. Une concentration de 1 mg/kg sol s'est avérée toxique pour les vers de terre, une concentration atteinte lors du traitement des galeries de campagnols à l'aide de bromadiolone. [37] Or, les milans sont réputés consommer régulièrement des vers et autres

arthropodes, ce qui pourrait les rendre plus susceptibles que d'autres rapaces d'être exposés à ces molécule.

La demi-vie de la bromadiolone dans le sol est estimée à cinq jours, une bioaccumulation de bromadiolone dans les lombrics est notée pendant quatorze jours, avec une mortalité croissante.

Par ailleurs, il faut prendre en compte qu'à partir de 2017 dans la majorité des cas, deux à trois anticoagulants sont détectés dans chaque oiseau.

Cela est dû en grande partie à l'évolution des techniques d'analyses. Avant 2014, la méthode employée ne permettait de détecter les anticoagulants qu'à partir de 0,1 µg/g là où depuis 2014, l'adoption d'une technique en LCMSMS très sensible permet à présent la détection de ces molécules des 0,01 µg/g)

Ainsi, l'intoxication des rapaces aux anticoagulants secondaire à la consommation de rongeurs ayant eux-mêmes consommé des appâts (bromadiolone), est bien présente, mais la présence de plusieurs autres molécules permet de formuler d'autres hypothèses.

Par exemple, des intoxications primaires, à la suite de la consommation d'appâts malveillants placés à l'intention des carnivores comme cela est le cas avec le carbofuran ou le chloralose, certains appâts pouvant contenir des combinaisons de plusieurs pesticides.

Ou bien des intoxications secondaires, liées à la lutte contre les rats dans des espaces plus urbains. On peut imaginer la consommation de rats agonisants ou morts sur les sites de décharges à ciel ouvert, où les milans sont fréquemment observés.

Cela est cohérent avec plusieurs études portant sur l'étude du foie de plusieurs espèces prédatrices, dont le milan royal : il a été montré que l'usage urbain des rodenticides est davantage source d'intoxication par rapport à l'usage agricole. [2]. La même constatation a été faite en Australie à la suite de l'analyse du foie de plusieurs oiseaux de proie, diurnes et nocturnes. [46]

Si on compare avec le reste de l'Europe, en 2016 en Angleterre, la restriction qui imposait un usage intérieur strict du Diféthialone, Flocoumafène et Brodifacoum a été levée.



Cependant, d'après l'étude, il n'y a pas d'augmentation particulière de la contamination à ces trois anticoagulants chez les milans analysés avant, et après l'assouplissement [100]

La représentation en « box-plot » de la somme des quantités d'anticoagulants mesurée chez chaque individu reste assez peu représentative. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en 2014, mais il ne faut pas oublier que cette donnée ne repose que sur 6 analyses.

Un autre point clé est l'augmentation du nombre de milans intoxiqués par trois ou quatre molécules. Cependant, le manque d'analyse sur animaux vivants permet difficilement de faire des liens entre l'augmentation avérée des multi-résidus et la répercussion sur la santé des oiseaux.

## 2. EXPOSITION DES MILANS DANS LE TEMPS ET L'ESPACE

L'absence totale d'individus positifs l'année 2016 est notable, mais sur onze individus évalués, il est tout à fait possible que cela ne soit que le fait du hasard.

Le sexe-ratio est équilibré ce qui était plutôt attendu puisque rien dans la littérature n'indiquait une prédisposition d'un des deux sexes.

La distribution des cas au cours de l'année est non homogène. Cela est cohérent avec le fait que les épisodes de pullulation de rongeurs surviennent majoritairement l'été, que cela soit dans les cultures ou en ville, car c'est la période de l'année où la nourriture est la plus abondante et où les rongeurs peuvent se reproduire en grand nombre. [26]

Chez la chouette effraie, il a été mis en évidence que les adultes étaient plus touchés par des intoxications aux anticoagulants que les jeunes dans leur première année [21], une tendance qu'il n'est pas possible de vérifier ici.

## 3. ESTIMATION D'UNE CONCENTRATION HEPATIQUE SEUIL

On a constaté l'augmentation du nombre de Milans présentant une hémorragie dans les différents groupes (jusqu'à atteindre 100% dans le 3<sup>ème</sup> groupe).

Il semble ardu de dégager de cette étude des seuils toxiques pour les différentes molécules. Il existe une importante variation individuelle, ainsi qu'une variation entre les différentes molécules employées (voir article 2011).

De plus, une quantité donnée peut ne pas être fatale pour un Milan faisant peu d'exercice (femelle en couvaision), mais le devenir en cas de trauma, fracture, ou hémorragie induite par une activité plus intense.

On peut tout de même noter que la concentration d'AVK la plus basse pour laquelle une augmentation des temps de saignement soit mentionnée est de  $0,175 \mu\text{g.g}^{-1}$  de matière fraîche (intoxication au brodifacoum). Le dernier trauma sans hémorragie associée est lui rapporté pour  $0,2 \mu\text{g.g}^{-1}$  de matière fraîche (Brodifacoum), ce qui donne des indices quant aux fourchettes de seuils toxiques envisageables pour les anticoagulants chez le Milan Royal.

La première constatation est que si les trois groupes de Milans positifs semblent montrer des tendances cohérentes avec les signes cliniques attendus, cela n'est pas le cas du groupe négatif aux AVK.

Par exemple, entre le premier et le troisième groupe, on constate une augmentation, certes statistiquement non significative, du nombre d'hémorragies sans traumas rapportés, et une diminution des traumas sans hémorragies. En revanche, pour le groupe des Milans négatifs, la proportion d'hémorragie sans trauma est supérieure à celle des groupes un des deux, et proche de celle du groupe 3.

Il semblerait que ces milans, testés pour les anticoagulants et négatifs pour ces molécules, ne constituent pas un groupe témoin intéressant. En effet, ces oiseaux sont pour la majorité d'entre eux positifs à un autre toxique ; ils ne représentent pas un échantillon aléatoire de Milans décédés.

## D. ELEMENTS TRACES METALLIQUES

### 1. EXPOSITION EN FRANCE

Dans notre étude, la quasi-totalité des milans intoxiqués aux ETM proviennent des Pyrénées. Cependant, le Nord-Est de la France ayant également un historique d'exploitation minière et industriel, on peut penser que les intoxications aux ETM y touchent également la faune de la région.

Le fait que les ETM soient plus difficile à suspecter dans le décès d'un rapace que le carbofuran ou les AVK, et le coût des analyses expliquent probablement que ceux-ci soient

plus rarement recherchés, surtout dans les régions de France où les subventions pour l'autopsie des milans sont moins importantes.

De plus, la chasse au petit gibier et au gibier d'eau concerne principalement le Sud-Ouest de la France, et on peut arbitrairement estimer que l'intoxication aux plombs de chasse est plus rare dans le Nord-Est de la France.

## 2. MORTALITE

Le plomb et le cadmium sont les toxiques de l'étude qui sont le moins souvent mis en cause dans la mort de l'oiseau par rapport au nombre de fois où ils ont été recherchés : cela peut s'expliquer par le fait que dans les départements des Pyrénées, la recherche de métaux lourds est réalisée sur pratiquement tous les cadavres. D'une part, parce que le budget alloué à la protection de l'espèce par le réseau SAGIR le permet. D'autre part, parce que cela permet d'estimer la contamination de l'environnement, en dehors des intoxications accidentelles sur les plombs de chasse, et d'identifier des territoires où les sols sont possiblement contaminés.

En dépit des DL50 admises par la communauté scientifique, il est toujours difficile de comprendre la part de l'intoxication aux ETM dans la mort de l'animal. En effet, des signes cliniques imputés à une intoxication chronique aux métaux lourds (diarrhée, baisse d'acuité visuelle) peuvent être peu handicapants lorsque la nourriture est abondante, mais s'avérer fatals lorsque les proies viennent à manquer.

Dans le cas du plomb, sur les sept animaux présentant une quantité de plomb résiduelle dans le foie et/ou le rein compatible avec des effets cliniques, deux sont décédés d'une intoxication aux carbamates (aldicarbe et carbofuran), pour des taux de plomb dans le rein de 6,68 et 7 $\mu$ g.g<sup>-1</sup> de matière sèche respectivement, c'est-à-dire des doses compatibles avec une intoxication clinique, mais qui n'ont pas directement causé la mort de l'oiseau. On peut en revanche imaginer que des oiseaux amaigris et en mauvais état général car intoxiqués aux ETM seraient plus à même d'ingérer des proies facilement disponibles, auquel cas le plomb aurait bien joué un rôle indirect dans la mort de ces deux oiseaux.

## 3. PREVALENCE DE SEXE

Aucune prévalence de sexe n'a pu être mise en évidence dans notre étude. Pour rappel, une étude chez le vautour percnoptère avait montré que les doses de plomb hépatique

mesurées chez le mâle étaient supérieures à celles des femelles, ce qui n'est pas le cas ici. Cependant le faible nombre d'échantillons ne permet pas de conclure complètement. Sur un plus grand nombre de cadavre, il pourrait être intéressant de comparer les deux sexes en fonction des saisons, puisque c'est la mobilisation du calcium osseux pour la formation de la coquille d'œuf qui est supposée être à l'origine d'une différence dans l'absorption et le stockage du plomb chez le mâle et la femelle.

Dans le cas du cadmium, où la p-value n'est pas significative mais proche de 0,05, plusieurs hypothèses sont envisageables pour justifier l'exposition supérieure des femelles, dont en priorité une contamination plus importante en raison de différence de régime alimentaire (bien que celle-ci n'ait pas été constatée à ce jour), ou bien une absorption supérieure chez les femelles en raison de différences d'un métabolisme différent.

#### 4. REPARTITION DU CADMIUM DANS L'ORGANISME

Il a été noté dans les résultats qu'en dépit d'une corrélation entre les valeurs de cadmium rénal et hépatique, plusieurs points ne correspondent pas à la courbe. On observe en de plus en plus de valeurs rénales « trop basses » lorsque les valeurs hépatiques augmentent.

Cela est cohérent avec la littérature : le cadmium endommage le fonctionnement du rein, et passé une certaine valeur, celui-ci ne retient plus le cadmium et la valeur de cadmium rénale chute brutalement. Cette valeur varie probablement selon les individus.

Considérant que le cadmium est réparti presque entièrement entre le foie et le rein, on peut estimer à partir de ce graphique que la répartition est autour de 12% dans le foie pour 88% dans le rein, ce qui est également cohérent avec ce qui a été vu plus haut dans la littérature.

#### 5. CORRELATION CADMIUM/PLOMB

Plusieurs hypothèses sont envisageables pour expliquer la corrélation représentée plus haut entre les taux de cadmium et de plomb de l'organisme.

Il est possible qu'il existe une source de contamination commune non ou mal identifiée. Les Pyrénées ont été un lieu d'extraction minière important dans les derniers siècles, avec présence de mines de plomb et de cadmium. Bien que les plombs de chasse

soient largement plus incriminés dans la contamination des rapaces, on peut imaginer une contamination importante des sols, et une intoxication des Milans via les insectes, vers de terre et autres invertébrés.

Dans cette hypothèse, l'impact des plombs de chasse sur les intoxications au plomb chez le milan royal seraient donc bien moins importantes que supposées au départ.

L'analyse de milans provenant de toute la France (ou l'Europe), et en particulier de zones non minières serait nécessaire pour confirmer ou infirmer cette hypothèse. L'étude de la contamination aux ETM chez d'autres espèces dans les Pyrénées pourrait également être intéressante.

Une seconde possibilité serait une potentialisation des deux ETM dans l'organisme, avec par exemple une augmentation de l'absorption ou du transport sanguin aux différents organes induite par l'un ou l'autre des deux métaux.



## CONCLUSION

Le Milan royal (*Milvus milvus*) est un rapace protégé dans toute l'Europe, dont la population a subi un important déclin ces dernières dizaines d'années. Sa protection est un enjeu porté par de nombreux acteurs en France : la LPO, le parc national des Pyrénées, l'OFB entre autres.

L'étude des différents toxiques affectant les milans en France permet à la fois d'identifier certains facteurs menaçant la sauvegarde de l'espèce, mais permet également, mais aussi de dresser un tableau de l'impact environnemental des activités humaines.

Le carbofuran reste le toxique le plus souvent incriminé dans les décès de Milan royal, et ce dans toute la France, et en particulier dans les départements du Nord-Est où de nombreux rapaces sont victimes chaque année d'appâts malveillants confectionnés avec des pesticides qui sont pour la plupart interdits en France depuis 2008. Les milans, charognards, sont fortement impactés par ces appâts, dont il est difficile de déterminer s'ils sont la cible

Lorsqu'ils ne sont pas directement victimes de toxiques, les milans en tant que prédateurs et nécrophages en fin de chaîne alimentaire bioaccumulent de nombreuses molécules, dont les rodenticides anticoagulants, qui s'ils ne causent pas toujours la mort de l'animal, peuvent l'entraîner en bloquant la cascade de la coagulation.

Contrairement à ce qui a souvent été considéré, l'impact de la bromadiolone utilisée dans les cultures est moins important que celui des molécules utilisées en tant que raticides dans les zones urbaines, où l'emploi des anticoagulants a donc un impact non négligeable sur le Milan royal.

D'autres contaminants restent problématiques pour le Milan royal. Ainsi, bien que la principale source de contamination au plomb reste l'utilisation de munition de chasse, nous avons également montré qu'une bioaccumulation conjointe des éléments traces métalliques d'origine tellurique, en particulier le plomb et le cadmium, est une hypothèse envisageable en particulier dans les ex régions minières.

Ces dernières années en Europe, le nombre de Milans royaux observés à chaque comptage semble en constante augmentation, ce qui est positif quant à la sauvegarde de l'espèce sur le long terme, et montre que les efforts engagés pour sa préservation à l'échelle

européenne portent leurs fruits. Cette amélioration reste fragile, en particulier du fait de l'exposition chronique aux différents contaminants étudiés.



## BIBLIOGRAPHIE

- 1 M. Giorgi, G. Mengozzi Veterinary Clinics Department, Malicious animal intoxications : poisoned baits , University of Pisa, Pisa, Italy, 2011
- 2 Anticoagulant rodenticides of non-target wildlife, Environmental Pollution, Volume 244, 2019, Pages 801-808, ISSN 0269-7491
- 3 Ballantyne B. Timothy C. Marrs, Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates 1st Edition
- 4 Baudrot V, Fritsch C, Perasso A, et al, Effects of contaminants and trophic cascade regulation on food chain stability: Application to cadmium soil pollution on small mammals – Raptor systems, Ecological Modelling, Volume 382, 2018, Pages 33-42, ISSN 0304-3800
- 5 BERNY P, GAILLET J-R (2006). Acute poisoning of red kites (*Milvus milvus*) in France: data from the SAGIR network. Journal of Wildlife Diseases, 44, 417-426.
- 6 Berny P, Vilagines L, Cugnasse JM, Mastain O, Chollet JY, Joncour G, Razin M. VIGILANCE POISON: Illegal poisoning and lead intoxication are the main factors affecting avian scavenger survival in the Pyrenees (France). Ecotoxicol Environ Saf. 2015
- 7 Bianco G & Montoya R, landscape, « muladare », or poisoning : using gis to assess factors related to the decline of breeding red kite (*milvus milvus*) in spain, , 2004
- 8 Book : Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations
- 9 Castro, I., Aboal, J.R., Fernández, J.A. et al. Use of Raptors for Biomonitoring of Heavy Metals: Gender, Age and Tissue Selection. Bull Environ Contam Toxicol 86, 347–351 (2011).
- 10 Chiari M., Cristina Cortinovia, Nicoletta Vitale, Mariagrazia Zanoni, Elena Faggionato, Alberto Biancardi, Francesca Caloni, Pesticide incidence in poisoned baits: A 10-year report, Science of The Total Environment, Volumes 601–602, 2017, Pages 285-292, ISSN 0048-9697
- 11 Christian Franson J. Christian, U.S. Geological Survey, Deborah J. Pain, Wildfowl & Wetlands Trust, 2011, “Lead in Birds” Published in Environmental Contaminants in Biota: Interpreting Tissue Concentrations, 2nd edition, ed. W. Nelson Beyer & James P. Meador
- 12 Circulaire DNP/CFF N° 2006-11 du 04/06/06 relative à la définition des zones sur lesquelles

a été instaurée une interdiction de l'usage du plomb de chasse

- 13 Code du travail article R. 4412-149
- 14 Coeurdassier M, Claire Poirson, Jean-Philippe Paul, Dominique Rieffel, Dominique Michelat, David Reymond, Philippe Legay, Patrick Giraudoux & Renaud Scheifler The diet of migrant Red Kites *Milvus milvus* during a Water Vole *Arvicola terrestris* outbreak in eastern France and the associated risk of secondary poisoning by the rodenticide bromadiolone
- 15 Conservation Practice and Policy Unintentional Wildlife Poisoning and Proposals for Sustainable Management of Rodents Michael Coeurdassier, Romain Riols, Anouk Decors, Aymeric Mionnet, Fabienne David, Thomas Quintaine, Denis Truchetet, Renaud Scheifler, Patrick Giraudoux
- 16 Descalzo E., Pablo R. Camarero, Inés S. Sánchez-Barbudo, Mónica Martínez-Haro, Manuel E. Ortiz-Santaliestra, Rubén Moreno-Opo, Rafael Mateo, Integrating active and passive monitoring to assess sublethal effects and mortality from lead poisoning in birds of prey, *Science of The Total Environment*, Volume 750, 2021, 142260, ISSN 0048-9697
- 17 Dietrich, D.R., Schmid, P., Zweifel, U. et al. Mortality of birds of prey following field application of granular carbofuran: A case study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 29, 140–145 (1995).
- 18 Elliott, John E.; Rattner, Barnett A.; Shore, Richard F.; and van den Brink, Nico W., "Paying the Pipers: Mitigating the Impact of Anticoagulant Rodenticides on Predators and Scavengers" (2016). USGS Staff -- Published Research. 952.
- 19 Ferrer A. Intoxicación por plaguicidas [Pesticide poisoning]. *An Sist Sanit Navar.* 2003;26 Suppl 1:155-71. Spanish. PMID: 12813483
- 20 Fourel Isabelle, Marlène Damin-Pernik, Etienne Benoit, Virginie Lattard, Cis-bromadiolone diastereoisomer is not involved in bromadiolone Red Kite (*Milvus milvus*) poisoning, *Science of The Total Environment*, Volumes 601–602, 2017, Pages 1412-1417, ISSN 0048-9697
- 21 GAMELIN L, HARRY P (2005). Rodenticides. *EMC-Toxicologie Pathologie*, 2, 89- 97.
- 22 Gangoso Laura, Pedro Álvarez-Lloret, Alejandro. A.B. Rodríguez-Navarro, Rafael Mateo, Fernando Hiraldo, José Antonio Donázar, Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in vultures exposed to ammunition sources, *Environmental Pollution*,

Volume 157, Issue 2, 2009.

- 23 García Fernández, Antonio Juan Navas, Isabel Simal, Jorge María-Mojica, Pedro Jiménez, Pedro, do court sentences reflect the reality of wildlife poisoning in the natural environment ? The Spanish case SETAC Europe 30th Annual Meeting, SciCon, Dublin 2020
- 24 Garcia-Fernandez J. A. Sanchez-Garcia, M. Gomez-Zapata, A. Luna Distribution of Cadmium in Blood and Tissues of Wild Birds
- 25 Gilad Segev, Einat Yas-Natan, Alan Shlosberg, Itamar Aroch, Alpha-chloralose poisoning in dogs and cats: A retrospective study of 33 canine and 13 feline confirmed cases, The Veterinary Journal, Volume 172, Issue 1, 2006, Pages 109-113, ISSN 1090-0233
- 26 Halliez G, Practices, predators, preys, common voles outbreak and biodiversity. Ecology, environment. Université de Franche-Comté, 2015. English. ffNNT : 2015BESA2035ff. fftel-01726172f
- 27 Heavy metals in livers of raptors from eastern poland – the importance of diet composition, Ignacy Kitowski, Agnieszka Sujak, Dariusz Wiącek, Wacław Strobel, Andrzej Komosa, Marcin Stobiński, Belgian journal of zoology, 2016
- 28 Hirschfeld, A. (2011): Distribution and possible impacts of illegal persecution on the Red Kite population in Germany. Ber.
- 29 Hunt K.A., D.M. Bird, P. Mineau, L. Shutt, Selective predation of organophosphate-exposed prey by American kestrels, Animal Behaviour, Volume 43, Issue 6, 1992, Pages 971-976, ISSN 0003-3472
- 30 INERIS 2011- Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques- CADMIUM ET SES DÉRIVÉS
- 31 INERIS 2016 : Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques- PLOMB ET SES DÉRIVÉS
- 32 INERIS 2020 : Facteurs d'influence de la bioaccessibilité orale de métaux et métalloïdes dans les sols
- 33 INRS Fiche Toxicologique N°201 (chloralose)
- 34 Inserm 2013 : Effets des pesticides sur la santé [pdf]
- 35 James B. Kring, Mortality of the Earthworm *Lumbricus terrestris* L. Following Soil Applications of Insecticides to a Tobacco Field, Journal of Economic Entomology, Volume 62, Issue 4, 1 August 1969, Page 963

- 36 Jhon J. López-Perea, Pablo R. Camarero, Rafael A. Molina-López, Luis Parpal, Elena Obón, Jessica Solá, Rafael Mateo, Interspecific and geographical differences in anticoagulant rodenticide residues of predatory wildlife from the Mediterranean region of Spain, *Science of The Total Environment*, Volume 511, 2015, Pages 259-267, ISSN 0048-9697
- 37 Jing Liu, Kang Xiong, Xiaoqing Ye, Jianyun Zhang, Ye Yang, Li Ji, Toxicity and bioaccumulation of bromadiolone to earthworm *Eisenia fetida*, *Chemosphere*, Volume 135, 2015, Pages 250-256, ISSN 0045-6535
- 38 *Journal of Applied Ecology* 2013, 50, 1406–1414 Using long-term monitoring of red fox populations to assess changes in rodent control practices Marion Jacquot, Michael Coeurdassier, Geoffroy Couval, Regis Renaude, David Pleydell, Denis Truchetet, Francis Raoul and Patrick Giraudoux
- 39 Kitowski, I., Łopucki, R., Stachniuk, A., & Fornal, E. (2020). A pesticide banned in the European Union over a decade ago is still present in raptors in Poland. *Environmental Conservation*, 47(4), 310-314. doi:10.1017/S037689292000034X
- 40 Laura Monclús, Richard F. Shore, Oliver Krone, Lead contamination in raptors in Europe: A systematic review and meta-analysis, *Science of The Total Environment*, Volume 748, 2020, 141437, ISSN 0048-969
- 41 Lead and cadmium in wild birds in southeastern Spain, Antonio Juan Garcia-Fernandez Jose Antonio Sanchez-Garcia Pedro Jimenez-Montalban Aurelio Luna, First published: December 1995
- 42 Lee F., L.L. Severinghaus, Sexual and seasonal differences in the diet of lanyu scops owls based on fecal analysis, *Journal of Wildlife Management*, 68 (2004), pp. 299-306
- 43 Lefebvre, S., Fourel, I., Chatron, N. et al. Comparative biological properties of the four stereoisomers of difethialone, a second-generation anticoagulant rodenticide, in rats : development of a model allowing to choose the appropriate stereoisomeric ratio. *Arch Toxicol* 94, 795–801 (2020)
- 44 Lemarchand C, Rosoux R, Péride ME, Berny P. Tissue concentrations of pesticides, PCBs and metals among ospreys, *Pandion haliaetus*, collected in France. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012 Jan;88(1):89-93. doi: 10.1007/s00128-011-0453-2. Epub 2011 Nov 5. PMID: 22057229.
- 45 LOCKE L.N., G. E. BAGLEY, H. D. IRBY; Acid-Fast Intranuclear Inclusion Bodies in the Kidneys

- of Mallards Fed Lead Shot. *Bulletin of the Wildlife Disease Association* 1 October 1966; 2 (4): 127–131.
- 46 Lohr M.T., Anticoagulant rodenticide exposure in an Australian predatory bird increases with proximity to developed habitat, *Science of The Total Environment*, Volume 643, 2018, Pages 134-144, ISSN 0048-9697
- 47 Lois D. Lehman, Curtis D. Klaassen, Dosage-dependent disposition of cadmium administered orally to rats, *Toxicology and Applied Pharmacology*, Volume 84, Issue 1, 1986, Pages 159-167, ISSN 0041-008X
- 48 Mautino, Michele. "Lead and Zinc Intoxication in Zoological Medicine: A Review." *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, vol. 28, no. 1, 1997, pp. 28–35
- 49 Milan Info n°40-41 (juillet 2020)
- 50 Mineau, P., Lyon, L. & McMillan, S.. 2012b. Impacts of carbofuran on birds in Canada and the United States. In: *Carbofuran and wildlife poisoning: global perspectives and forensic approaches* (Ed: N. L. Richards). John Wiley and Sons, Ltd, United Kingdom. Pp 208-250.
- 51 Molenaar, F.M., Jaffe, J.E., Carter, I. et al. Poisoning of reintroduced red kites (*Milvus Milvus*) in England. *Eur J Wildl Res* 63, 94 (2017)
- 52 Molenaar, F.M., Jaffe, J.E., Carter, I. et al. Poisoning of reintroduced red kites (*Milvus Milvus*) in England. *Eur J Wildl Res* 63, 94 (2017).
- 53 Molenaar, Fieke & Jaffe, Jenny & Carter, Ian & Barnett, Elizabeth & Shore, Richard & Rowcliffe, Marcus & Sainsbury, Anthony W. (2017). Poisoning of reintroduced red kites (*Milvus Milvus*) in England. *European Journal of Wildlife Research*. 63. 10.1007/s10344-017-1152-z.
- 54 Montaz, J., Jacquot, M. & Coeurdassier, M. Scavenging of rodent carcasses following simulated mortality due to field applications of anticoagulant rodenticide. *Ecotoxicology* 1671–1680 (2014)
- 55 Montesdeoca Natalia, Pascual Calabuig, Juan A. Corbera, Jorge Orós; Causes of Admission for Raptors to the Tafira Wildlife Rehabilitation Center, Gran Canaria Island, Spain: 2003–13. *J Wildl Dis* 1 July 2016; 52 (3)
- 56 Mougeot, Francois & Bretagnolle, Vincent. (2006). Breeding biology of the Red Kite *Milvus milvus* in Corsica. *Ibis*. 148. 436 - 448. 10.1111/j.1474-919X.2006.00558.x. [4\*] ORLIEB, R. ç\_ ROTMILAN, 1989

- 57 Nakayama SMM, Morita A, Ikenaka Y, Mizukawa H, Ishizuka M. A review: poisoning by anticoagulant rodenticides in non-target animals globally. *J Vet Med Sci.* 2019 ; 81(2):298-313. doi:10.1292/jvms.17-0717
- 58 Neathery M.W., W.J. Miller, *Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury, and Lead in Animals: A Review*<sup>1</sup>, *Journal of Dairy Science*, Volume 58, Issue 12, 1975, Pages 1767-1781, ISSN 0022-0302,
- 59 Newton, I. (2021), Killing of raptors on grouse moors: evidence and effects. *Ibis*, 163: 1-19.
- 60 Norberto Ruiz-Suárez, Luis D. Boada, Luis A. Henríquez-Hernández, Federico González-Moreo, Alejandro Suárez-Pérez, María Camacho, Manuel Zumbado, Maira Almeida-González, María del Mar Travieso-Aja, Octavio P. Luzardo, Continued implication of the banned pesticides carbofuran and aldicarb in the poisoning of domestic and wild animals of the Canary Islands (Spain), *Science of The Total Environment*, Volume 505, 2015, Pages 1093-1099, ISSN 0048-9697
- 61 PAIN D.J, AMIARD-TRIQUET C (1993). Lead poisoning of raptors in France and elsewhere. *Ecotoxicology and environmental safety*, 25, 183-192.
- 62 PAIN D.J, FISHER I.J, THOMAS V.G (2009). A global update of lead poisoning in terrestrial birds from ammunition sources. In *Ingestion of lead from spent ammunition : implications for wildlife and humans*. Boise, Idaho: The Peregrine Fund, 20p
- 63 Pain D.J., Lead shot ingestion by waterbirds in the Camargue, France: An investigation of levels and interspecific differences, *Environmental Pollution*, Volume 66, Issue 3, 1990, Pages 273-285, ISSN 0269-7491
- 64 Pain DJ, A.A. Meharg, M. Ferrer, M. Taggart, V. Penteriani, Lead concentrations in bones and feathers of the globally threatened Spanish imperial eagle, *Biological Conservation*, Volume 121, Issue 4, 2005, Pages 603-610, ISSN 0006-3207
- 65 Pain DJ, Carter I, Sainsbury AW, Shore RF, Eden P, Taggart MA, Konstantinos S, Walker LA, Meharg AA, Raab A. Lead contamination and associated disease in captive and reintroduced red kites *Milvus milvus* in England. *Sci Total Environ.* 2007
- 66 Patrick T. Redig, Lori R. Arent, *Raptor Toxicology*, *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, Volume 11, Issue 2, 2008, Pages 261-282, ISSN 1094-9194
- 67 Pinasseau, Marie. Les intoxications des rapaces dues aux activités humaines en France. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT,

- 2015, 127 p.
- 68 Rapport : Utilisation durable des rodenticides en tant que biocides au sein de l'Union Européenne – EPBF (European Biocidal Product Form)
- 69 Raptor J. Res. 52(2):000–000 2018 The Raptor Research Foundation, Inc. Secondary anticoagulant rodenticide exposure in migrating juvenile red-tailed hawks (*buteo jamaicensis*) in relationship to body condition Emily V. Abernathy, Joshua M. Hull, Allen M. Fish, Christopher W. Briggs
- 70 Raptor Res J. 53(4):402–409 2019 The Raptor Research Foundation, Inc. Examining sublethal effects of anticoagulant Rodenticides on haemosporidian parasitemia and body Condition in migratory red-tailed hawks Laura A. Kwasnoski Kristina A. Dudus And Allen M. Fish Emily V. Abernathy
- 71 Rattner, B. A., & Harvey, J. J. (2020). Challenges in the interpretation of anticoagulant rodenticide residues and toxicity in predatory and scavenging birds. *Pest Management Science*. doi:10.1002/ps.6137
- 72 RATTNER, B.A., HORAK, K.E., WARNER. S.E.et al. (2011). Acute toxicity, histopathology, and coagulopathy in American Kestrels (*Falco Sparverius*) following administration of the rodenticide diphacinone. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30, 1213-1222.
- 73 Redig, P.T., Lawler, E.M., Schwartz, S. et al. Effects of chronic exposure to sublethal concentrations of lead acetate on heme synthesis and immune function in red-tailed hawks. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 72–77 (1991)
- 74 Renata Świergosz, Marta Zakrzewska, Katarzyna Sawicka-Kapusta, Katarzyna Bacia, Izabela Janowska, Accumulation of Cadmium in and Its Effect on Bank Vole Tissues after Chronic Exposure, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 41, Issue 2, 1998, Pages 130-136, ISSN 0147-6513
- 75 Resetaritz, a. 2006. ecology of over-wintering red kites *milvus milvus* (Linne, 1758) in the foothills of the north Harz mountains
- 76 Richards Jean, Adrienne Lickey, Jonathan M. Sleeman "DECREASING PREVALENCE AND SEASONAL VARIATION OF GUNSHOT TRAUMA IN RAPTORS ADMITTED TO THE WILDLIFE CENTER OF VIRGINIA: 1993–2002," *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(3), 485-488, (1 September 2005)
- 77 Richards N., Irene Zorrilla, Joseph Lalah, Peter Otieno, Isabel Fernandez, Monica Calvino

and Joaquin Garcia, Talons and beaks are viable but underutilized samples for detecting organophosphorus and carbamate pesticide poisoning in raptors, Vulture News 72 July 2017

- 78 ROCH M (2008). Intoxications par les rodenticides anticoagulants chez les animaux : Synthèse bibliographique et réalisation d'un guide vétérinaire sur la prise en charge des animaux intoxiqués par les anticoagulants, à l'usage des professions médicales. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon I, 150p.
- 79 Sánchez-Barbudo Inès.S, Pablo R. Camarero, Rafael Mateo, Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain, Science of The Total Environment, Volume 420, 2012, Pages 280-288, ISSN 0048-9697
- 80 Scheuhammer, A.M., Norris, S.L. The ecotoxicology of lead shot and lead fishing weights. Ecotoxicology 5, 279–295 (1996).
- 81 Site de l'ANSES. Fiche informative « Registre des AMM de produits phyto et MFSC » [anses.fr/fr/content/registre-des-amm-de-produits-phyto-et-mfsc](https://anses.fr/fr/content/registre-des-amm-de-produits-phyto-et-mfsc) [En ligne, consulté le 06/07/2021]
- 82 Site de L'european chemichal agency, article sur les plombs de chasse et de pêche <https://echa.europa.eu/fr/hot-topics/lead-in-shot-bullets-and-fishing-weights>, en ligne, consulté le 16/07/2021 En ligne, cconsulté le 19/07/2021
- 83 Site de l'INRS <https://www.inrs.fr/risques/plomb/ce-qu-il-faut-retenir> , En ligne, consulté le 09/07/2021
- 84 Site de l'INRS, base de données biotox <https://www.inrs.fr/publications/bdd/biotox.html> [En ligne - consulté le 12/07/2021]
- 85 Site de l'Office Français de la biosiversité – présentation du réseau SAGIR <https://ofb.gouv.fr/le-reseau-sagir> [En ligne - consulté le 05/07/2021]
- 86 Site de l'office National de la Chasse et de la faune sauvage. ONCFS [www.oncfs.gouv.fr/Fiches-juridiques-chasse-ru377/](http://www.oncfs.gouv.fr/Fiches-juridiques-chasse-ru377/) [En Ligne consulté le 03/07/2021]
- 87 Site de la LPO, fiche d'information sur le Milan Royal <http://rapaces.lpo.fr/milan-royal/sensibilisation-et-documentation>, [En ligne - consulté le 09/07/2021]
- 88 Site du Centre Canadien d'hygiène et de sécurité du travail, <https://www.cchst.ca> en ligne, consulté le 20/06/21
- 89 Site du programme LIFE-EUROKITE <https://www.life-eurokite.eu/fr/713.html>\* [En ligne -



consulté le 09/07/2021]

- 90 Site independant oiseaux.net, fiche du Milan Royal  
<https://www.oiseaux.net/oiseaux/milan.royal.html> [En ligne - consulté le 15/06/2021]
- 91 Site LEGIFRANCE.GOUV.fr Avis relatif aux producteurs, importateurs et distributeurs de substances actives et de produits biocides et autres responsables de la mise sur le marché de produits biocides, et aux utilisateurs de produits biocides concernant l'interdiction d'utilisation de certains produits biocides [en ligne consulté le 01/07/21]
- 92 Site Portail Européen pour l'ornithologie : carte interactive représentant les mouvements des milans en fonction des saisons et des années.  
<https://eurobirdportal.org/ebp/en/#home/MILMIL/p52weeks> [En ligne, consulté le 26/07/21]
- 93 Site : Portail de lutte contre le campagnol terrestre [www.campagnols.fr](http://www.campagnols.fr) [En ligne, consulté le 25/06/21]
- 94 Tavernier, Paul & Roels, Stefan & Baert, Kristof & Hermans, Katleen & Pasmans, Frank & Chiers, Koen. (2004). Lead intoxication by ingestion of lead shot in racing pigeons (*Columba livia*). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 73. 307-309.
- 95 Testud, François & Grillet, J.-P. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *EMC - Pathologie professionnelle et de l'environnement*. 2. 1-24. 10.1016/S1155-1925(07)71836-0.
- 96 Thomas HM, Simpson D, Prescott LF. The toxic effects of alpha-chloralose. *Hum Toxicol*. 1988 May;7(3):285-7. doi: 10.1177/096032718800700311. PMID: 3391628.
- 97 Trust Kimberly A., Michael W. Miller, James K. Ringelman, Ian M. Orme; EFFECTS OF INGESTED LEAD ON ANTIBODY PRODUCTION IN MALLARDS (*ANAS PLATYRHYNCHOS*). *J Wildl Dis* 1 July 1990; 26 (3): 316–322.
- 98 Vallverdú-Coll N., Rafael Mateo, François Mougeot, Manuel E. Ortiz-Santaliestra, Immunotoxic effects of lead on birds, *Science of The Total Environment*, Volume 689, 2019, Pages 505-515, ISSN 0048-9697
- 99 Vyas B, J.W. Spann, G.H. Heinz, Lead shot toxicity to passerines, *Environmental Pollution*, Volume 111, Issue 1, 2001, Pages 135-138, ISSN 0269-7491
- 100 Walker, L.A.; Jaffe, J.E.; Barnett, E.A; Chaplow, J.S.; Charman, S.; Giela, A.; Hunt, A.G.; Jones, A.; Pereira, M.G.; Potter, E.D.; Sainsbury, A.W.; Sleep, D.; Senior, C.; Sharp, E.A.;

Vyas, D.S; Shore, R.F.. 2019 Anticoagulant rodenticides in red kites (*Milvus milvus*) in Britain in 2017 and 2018. Lancaster, NERC/Centre for Ecology & Hydrology, 28pp.



# PRINCIPALES CAUSES D'INTOXICATIONS LIEES AUX ACTIVITES HUMAINES CHEZ LE MILAN ROYAL (MILVUS MILVUS) : ANALYSE DES DONNEES DU LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE DE VETAGROSUP

---

Auteur

---

LOUSTE Eva

Résumé

---

Le Milan royal (*Milvus milvus*) est un rapace endémique d'Europe qui a vu sa population fortement décliner au cours des dernières décennies. Aujourd'hui en France, plusieurs programmes et associations œuvrent pour la conservation du milan. L'analyse des toxiques détectés dans les cadavres permet de dresser un bilan global des menaces toxicologiques directement liées aux activités humaines ayant un impact sur la conservation du milan, et d'évoquer des pistes pour la protection de l'espèce.

Mots-clés

---

Milan royal, Animaux -- Conservation, Intoxication, Nature -- Effets de l'homme

Jury

---

Président du jury : Pr **MION François**

Directeur de thèse : Pr **BERNY Philippe**

1er assesseur : Pr **BERNY Philippe**

2ème assesseur : Dr **RENE-MARTELET Magali**