



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 14505

To cite this version :

Goube, Anaïs. *Diagnostic post-mortem des intoxications chez les carnivores domestiques : intérêts et limites de l'autopsie. Etude de 23 cas d'intoxication*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 119 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

DIAGNOSTIC POST-MORTEM DES INTOXICATIONS CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES - INTERÊTS ET LIMITES DE L'AUTOPSIE. ETUDE DE 23 CAS D'INTOXICATION

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

GOUBE Anaïs

Née, le 11 décembre 1990 à Toulouse (31)

Directeur de thèse : Mme Martine KOLF-CLAUW

JURY

PRESIDENT :

M. Christian VIRENQUE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Martine KOLF-CLAUW

Mme Isabelle RAYMOND-LETRON

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Christian VIRENQUE

Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale

Qui me fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse

Hommages respectueux

A MON JURY DE THESE

A Madame le Professeur Martine KOLF-CLAUW

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pharmacologie et Toxicologie

Pour son implication et sa gentillesse dans l'encadrement de mon travail

Sincères remerciements

A Madame le Docteur Isabelle RAYMOND-LETRON

Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Anatomie Pathologique

Qui me fait l'honneur de participer à mon jury de thèse

Qu'elle trouve ici la marque de toute ma considération

A ceux ayant contribué à ce travail

A Monsieur le Professeur Philippe BERNY
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Toxicologie

*Pour m'avoir permis d'accéder aux données du laboratoire toxicologique
vétérinaire de Lyon, pour son accueil et sa disponibilité
Sincères remerciements*

Au personnel du Laboratoire de Diagnostic Toxicologique Vétérinaire de
Lyon, du Centre-Antipoison Animal de Toulouse (CAPAT) et du Centre
Antipoison Animal et Environnemental de l'Ouest (CAPAE-Ouest) qui
ont contribué à ce travail. *Un grand merci.*

Table des matières

TABLE DES MATIERES	9
LISTE DES ILLUSTRATIONS	11
LISTE DES TABLEAUX	12
LISTE DES ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	15
1^{ERE} PARTIE – LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE POST-MORTEM	17
I.1- CONTEXTE DE L’AUTOPSIE	18
I.2- PREPARATION A L’AUTOPSIE	20
I.3- PROCEDURE DE REALISATION TECHNIQUE DE L’AUTOPSIE.....	21
I.3.1 - <i>Examen général externe</i>	21
I.3.2 - <i>Dépouillement</i>	22
I.3.3 - <i>Ouverture de la cavité abdominale</i>	22
I.3.4 - <i>Ouverture et exploration de la cavité thoracique</i>	23
I.3.5 - <i>Eviscération</i>	23
I.3.6 - <i>Appareil respiratoire</i>	24
I.3.7 - <i>Cœur</i>	24
I.3.8 - <i>Appareil digestif</i>	25
I.3.9 - <i>Appareil urinaire et génital</i>	25
I.3.10 - <i>Organes hémato lympho-poïétiques</i>	25
I.3.11 - <i>Système nerveux central</i>	25
I.3.12 - <i>Appareil locomoteur</i>	26
I.4- DESCRIPTION DES LESIONS	26
I.4.1 – <i>Description lésionnelle</i>	26
I.4.1.1- Localisation.....	26
I.4.1.2- Distribution	27
I.4.1.3 - <i>Forme</i>	28
I.4.1.4 - <i>Taille et extension</i>	28
I.4.1.5 - <i>Couleur</i>	28
I.4.1.6 - <i>Consistance et texture</i>	29
I.4.1.7 - <i>Aspect à la coupe</i>	29
I.4.1.8 - <i>Particularités</i>	29
I.4.2 – <i>Diagnostic macroscopique et rapport d’autopsie</i>	30
I.5- PRELEVEMENTS	31
I.5.1- <i>Histopathologie</i>	31
I.5.1.1 - <i>Prélèvement et fixation</i>	31
I.5.1.2 - <i>Préparation des lames histologiques</i>	32
I.5.1.3 - <i>Lecture</i>	32
I.5.2- <i>Toxicologie</i>	33
I.5.2.1 - <i>Prélèvements : nature et quantité</i>	33
I.5.2.2 - <i>Conditionnement</i>	36
I.6- TOXICOLOGIE ANALYTIQUE.....	38
I.6.1- <i>Toxicologie analytique en médecine humaine</i>	38
I.6.1.1- <i>Méthodes de séparation</i>	38
I.6.1.2- <i>Méthodes d’identification : la spectrométrie</i>	42
I.6.1.3- <i>Nouveautés en toxicologie analytique humaine</i>	44
I.6.2- <i>Toxicologie analytique en médecine vétérinaire</i>	45
I.6.2.1- <i>Applications analytiques de la toxicologie humaine à la toxicologie vétérinaire</i>	45
I.6.2.2- <i>Microscopie végétale</i>	46
2^{EME} PARTIE – ETUDE TOXICOLOGIQUE	47
II.1 - <i>EPIDEMIOLOGIE DES INTOXICATIONS DES CARNIVORES DOMESTIQUES</i>	48
II.1.1 - <i>Espèces concernées</i>	48
II.1.2- <i>Modalités d’exposition</i>	50
II.1.3- <i>Toxiques concernés</i>	50
II.2- <i>LESIONS ET DIAGNOSTIC DE CERTITUDE DES INTOXICATIONS CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES</i>	57
II.2.1- <i>Toxiques entraînant des lésions macroscopiques caractéristiques</i>	57
II.2.1.1- <i>Raticides anticoagulants</i>	57

1) Présentation.....	57
2) Lésions macroscopiques et histologiques	61
3) Diagnostic de certitude : prélèvements et méthodes d'analyse	65
4) Illustrations par des cas de terrain	66
II.2.1.2- Monoxyde de Carbone.....	68
1) Présentation.....	68
2) Lésions.....	71
3) Diagnostic de certitude	73
II.2.1.3- Irritants, détergents et caustiques	75
1) Présentation.....	75
2) Lésions.....	78
3) Diagnostic de certitude	79
<i>II.2.2- Toxiques entrainant des lésions histologiques caractéristiques</i>	<i>80</i>
II.2.2.1- Ethylène glycol.....	80
1) Présentation.....	80
2) Lésions.....	83
3) Diagnostic de certitude	86
<i>II.2.3- Toxiques entrainant des lésions non spécifiques</i>	<i>88</i>
II.2.3.1 - Strychnine.....	88
1) Présentation.....	88
2) Lésions.....	89
3) Diagnostic de certitude	90
4) Illustrations par des cas de terrain	91
II.2.3.2 - Chloralose.....	93
1) Présentation.....	93
2) Lésions.....	94
3) Diagnostic de certitude	95
4) Illustrations par des cas de terrain	96
II.2.3.3 - Organophosphorés et carbamates	97
1) Présentation.....	97
2) Lésions.....	100
3) Diagnostic de certitude	101
4) Illustrations par des cas de terrain	102
II.2.3.4 - Lindane.....	105
1) Présentation.....	105
2) Lésions.....	107
3) Diagnostic de certitude	108
4) Illustrations par des cas de terrain	108
CONCLUSION	109
BIBLIOGRAPHIE.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.

Liste des illustrations

FIGURE 1 - OUVERTURE DU CŒUR LORS DE L'EXAMEN NECROPSIQUE	24
FIGURE 2 – EXEMPLES DE TERMINOLOGIE UTILISEE POUR DECRIRE LA LOCALISATION D'UNE LESION	27
FIGURE 3 – EXEMPLES DE TERMINOLOGIE UTILISEE POUR DECRIRE LA DISTRIBUTION D'UNE LESION	27
FIGURE 4 – AUTRES EXEMPLES DE TERMINOLOGIE UTILISEE POUR DECRIRE LA DISTRIBUTION D'UNE LESION	28
FIGURE 5- RESULTATS D'UNE CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE ASSOCIEE A UNE DENSITOMETRIE.....	40
FIGURE 6 - RESULTATS D'UNE CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE POUR LA RECHERCHE DE CARBAMATES.	40
FIGURE 7- REPARTITION DES ESPECES CONCERNEES PAR LES APPELS AU C.N.I.T.V. EN 2003.	49
FIGURE 8 - REPARTITION DES ESPECES CONCERNEES PAR LES ANALYSES REALISEES AU LABORATOIRE DE TOXICOLOGIE DE LYON EN 2003.	49
FIGURE 9- HEMORRAGIES SOUS CUTANEEES ET MUSCULAIRES LORS D'UNE INTOXICATION AUX AVK CHEZ UN CHIEN	62
FIGURE 10 - HEMORRAGIE PULMONAIRE LORS D'UNE INTOXICATION AUX AVK CHEZ UN CHIEN.....	62
FIGURE 11 - HEMOPERITOINE LORS D'UNE INTOXICATION AUX AVK CHEZ UN CHIEN.....	62
FIGURE 12 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LES AVK CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	64
FIGURE 13- MODIFICATION DE LA COURBE DE DISSOCIATION DE L'HEMOGLOBINE LORS D'INTOXICATION AU MONOXYDE DE CARBONE	69
FIGURE 14 – DEPOT DE FUMEE LE LONG DE LA TRACHEE D'UN CHIEN DECEDE DANS UN INCENDIE	71
FIGURE 15 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LE MONOXYDE DE CARBONE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	72
FIGURE 16 - POSITION DES BANDES D'ABSORPTION (EN NM) EN EXAMEN SPECTROSCOPIQUE.....	73
FIGURE 17 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LES CAUSTIQUES CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	79
FIGURE 18 - SCHEMA DE LA METABOLISATION HEPATIQUE OXYDATIVE ET TOXIFIANTE DE L'ETHYLENE GLYCOL. 81	
FIGURE 19 - CRISTAUX D'OXALATE DE CALCIUM MONOHYDRATE ET DIHYDRATE DANS LE SEDIMENT URINAIRE D'UN CHIEN (X100).....	83
FIGURE 20 - CRISTAUX D'OXALATE DE CALCIUM DANS UN REIN DE CHIEN INTOXIQUE A L'ETHYLENE GLYCOL.....	85
FIGURE 21 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR L'ETHYLENE GLYCOL CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	86
FIGURE 22 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LA STRYCHNINE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	90
FIGURE 23 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LE CHLORALOSE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	95
FIGURE 24 - CONTENU GASTRIQUE BLEUTE CHEZ UN CHIEN INTOXIQUE AU CARBOFURAN.....	100
FIGURE 25 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LES INHIBITEURS DES CHOLINESTERASES CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.....	101
FIGURE 26 - LESIONS MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUES INDUITES PAR LE LINDANE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES.	107

Liste des tableaux

TABLEAU 1 - MATERIEL NECESSAIRE POUR LA REALISATION D'UNE AUTOPSIE	21
TABLEAU 2 - TERMINOLOGIE POUR DECRIRE LA CONSISTANCE D'UNE LESION.....	29
TABLEAU 3 - PRELEVEMENTS RECOMMANDES POUR L'ANALYSE TOXICOLOGIQUE SELON LE TOXIQUE SUSPECTE .	35
TABLEAU 4 - REPARTITION DES TOXIQUES EN FONCTION DU NOMBRE D'APPELS (HORS RENSEIGNEMENT) CONCERNANT LES CARNIVORES DOMESTIQUES AU CNITV EN 2003	52
TABLEAU 5 - NOMBRES D'APPELS PAR TOXIQUES AVEC MORTALITE DES CARNIVORES DOMESTIQUES ENREGISTRES AU CNITV ENTRE 1991 ET 1997	53
TABLEAU 6 - PRINCIPAUX TOXIQUES CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES EN FONCTION DU NOMBRE D'ANALYSES POSITIVES REALISEES AU LABORATOIRE D'ANALYSES TOXICOLOGIQUES DE LYON EN 2003.	54
TABLEAU 7 - NOMBRES D'ANALYSES POSITIVES SUR ANIMAUX MORTS (TOUTES ESPECES) REALISEES AU LABORATOIRE D'ANALYSES VETERINAIRE DE LYON ENTRE 1994 ET 1999	55
TABLEAU 8 - TOXIQUES RETENUS DANS L'ETUDE.....	56
TABLEAU 9 - MOLECULES DE RATICIDES ANTICOAGULANTS CLASSEES PAR FAMILLE ET GENERATION.....	57
TABLEAU 10 - QUELQUES CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES DIFFERENTS ANTICOAGULANTS	58
TABLEAU 11 - TOXICITE DES ANTICOAGULANTS POUR LE CHIEN ET LE CHAT (DL50 EN MG/KG PAR VOIE ORALE)	60
TABLEAU 12 - CAS DE TERRAIN D'INTOXICATIONS AUX RODENTICIDES ANTICOAGULANTS CONFIRMES PAR UNE ANALYSE TOXICOLOGIQUE ET AUTOPSIES.....	67
TABLEAU 13 - LES DIFFERENTS IRRITANTS ET CAUSTIQUES	75
TABLEAU 14 - DOSE LETALE MEDIANE CHEZ LE RAT POUR LES PRINCIPAUX CAUSTIQUES SELON LA VOIE D'EXPOSITION	77
TABLEAU 15- DL50 PER OS DE L'ETHYLENE GLYCOL CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT.....	82
TABLEAU 16 - DOSE LETALE DE LA STRYCHNINE CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT.....	89
TABLEAU 17 - CAS DE TERRAIN D'INTOXICATION A LA STRYCHNINE CONFIRMES PAR UNE ANALYSE TOXICOLOGIQUE ET AUTOPSIES.	92
TABLEAU 18 - DOSES TOXIQUES DU CHLORALOSE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES	94
TABLEAU 19 - CAS DE TERRAIN D'INTOXICATION AU CHLORALOSE CONFIRMES PAR UNE ANALYSE TOXICOLOGIQUE ET AUTOPSIES	96
TABLEAU 20 - LISTES DES MOLECULES INHIBITRICES DES CHOLINESTERASES SELON LEUR FAMILLE ET LEUR AUTORISATION D'UTILISATION DANS L'UNION EUROPEENNE.	97
TABLEAU 21 - DOSE LETALE 50 DE CERTAINS INHIBITEURS DES CHOLINESTERASES CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT ..	99
TABLEAU 22 - CAS DE TERRAIN D'INTOXICATION AUX INHIBITEURS DES CHOLINESTERASES CONFIRMES PAR UNE ANALYSE TOXICOLOGIQUE ET AUTOPSIES.....	103
TABLEAU 23 - DOSE LETALE 50 ORALE DU LINDANE CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT.	106
TABLEAU 24 - CAS DE TERRAIN D'INTOXICATION AU LINDANE CONFIRMES PAR UNE ANALYSE TOXICOLOGIQUE ET AUTOPSIES.....	108

Liste des abréviations

AVK	Anti-Vitamine K
C.A.P.A.E.	Centre Antipoison Animal et Environnemental
C.A.P.A.T.	Centre Antipoison Animal de Toulouse
C.N.I.T.V.	Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires
CCM (TLC)	Chromatographie sur Couche Mince (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
CIVD	Coagulation Intra Vasculaire Disséminée
CPG (GC)	Chromatographie en Phase Gazeuse (<i>Gas Chromatography</i>)
CO	Monoxyde de Carbone
CPL (LC)	Chromatographie en Phase Liquide (<i>Liquid Chromatography</i>)
DL 50	Dose Létale médiane
ECD	Electron Capture Detector (<i>Détecteur à absorption électronique</i>)
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ENVT	Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
FID	Flame Ionization Detector (<i>Détecteur par ionisation de flamme</i>)
GABA	Acide Gamma-AminoButyrique
HCH	Hexachlorocyclohexane
HE	Hémalun Eosine
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography
IDC	Inhibiteurs des cholinestérases
LD	Limite de détection
QMS	Quadrupole Mass Spectrometry
SM (MS)	Spectrométrie de masse (<i>Mass Spectrometry</i>)
SPE	Extraction phase solide
TID	Détecteur Thermoïonique
TOF	Time of flight
UHPTLC	Ultra High Performance Thin Layer Chromatography
UV	Ultra-violets
VU	Valeurs Usuelles

Introduction

Face à la mort brutale et inexplicée d'un animal en bonne santé, l'hypothèse d'une intoxication est souvent évoquée par le propriétaire comme par le praticien. L'absence de troubles cliniques observables dans les jours précédents et la brutalité d'apparition des troubles orientent vers une origine toxique. Le diagnostic clinique des intoxications chez les animaux de compagnie est souvent difficile à cause du nombre de substances toxiques et de la variété des troubles qu'elles entraînent. Le diagnostic repose alors sur la confrontation d'informations épidémiologiques, cliniques, nécropsiques et analytiques. Le recours à un laboratoire est souvent indispensable pour avoir un diagnostic de certitude d'intoxication. Ce diagnostic repose sur un prélèvement précoce et correctement mené lors de l'examen nécropsique. Les analyses de toxiques sont difficiles et nécessitent la mise en œuvre de méthodes lourdes et onéreuses. En raison de l'éventail de toxiques possibles, la recherche toxicologique doit être orientée par les commémoratifs fournis, étayés de préférence d'un examen nécropsique rigoureux (Lorgue 1992). Dans tous les cas, l'examen nécropsique est indispensable dans le diagnostic post-mortem, y compris en cas d'intoxication. En effet, la première étape de la démarche diagnostique est d'éliminer d'autres causes fatales qui deviendraient évidentes lors de l'autopsie. Puis, l'objectif du diagnostic toxicologique est de déterminer le toxique en cause et de confirmer l'imputabilité des signes cliniques et de leurs évolutions, y compris le décès, à ce toxique. On recherche également la quantité de toxique dans l'organisme, la présence de circonstances favorisant pouvant diminuer la dose toxique pour l'animal concerné, la voie d'administration et le moment de l'intoxication. Enfin, on s'interroge sur la source et les modalités de l'empoisonnement.

L'importance de détecter le toxique en cause est d'espérer identifier et éliminer la source de l'intoxication pour protéger les autres animaux ou les humains qui pourraient être exposés à la même substance (Russo, Restucci, Severino 2013).

L'objectif de cette thèse est de mettre en évidence, à partir des ressources bibliographiques et d'enquêtes auprès des centres anti-poisons vétérinaires des écoles vétérinaires, l'intérêt et les limites de l'autopsie dans le diagnostic des intoxications chez les carnivores domestiques. La démarche diagnostique rigoureuse à suivre face à un animal mort supposé intoxiqué est détaillée dans une première partie : de l'autopsie à la toxicologie analytique, nous verrons l'aspect pratique de la démarche pour le praticien et les différences

de moyens entre la médecine humaine et vétérinaire. Dans un second temps, les toxiques pour lequel l'autopsie présente un intérêt dans l'orientation du diagnostic seront présentés, illustrés par des observations de terrain recueillies auprès des centres anti-poisons vétérinaires de France. Enfin, quelques cas illustreront les lésions observées lors d'intoxications pour lesquelles l'autopsie ne permet pas d'orienter le diagnostic vers un toxique spécifique. Au total, 23 cas associant une intoxication confirmée et un rapport d'autopsie ont été recueillis auprès du centre antipoison animal de Toulouse (C.A.P.A.T.), du Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires (C.N.I.T.V.) et du Centre Antipoison Animal et Environnemental de l'Ouest (CAPAE-Ouest) entre 2008 et 2014. Parmi ces cas, 6 concernent les rodenticides anticoagulants et 17 des toxiques avec des lésions non spécifiques.

1^{ERE} PARTIE – LA DEMARCHE DIAGNOSTIQUE POST-MORTEM

La médecine légale est une spécialité de la médecine qui étudie les lésions et leurs causes. La médecine légale clinique s'intéresse en particulier à la traumatologie alors que la médecine légale thanatologique s'intéresse aux causes de la mort et utilise principalement l'autopsie. La médecine légale n'est pas forcément judiciaire même s'il s'agit de son noyau dur en humaine (Collège français des pathologistes 2011). La médecine légale a fait son apparition en Europe au 16^e siècle mais c'est au 19^e siècle qu'elle s'est considérablement développée. Ces dernières décennies, l'évolution de la médecine légale a conduit le médecin légiste à s'intégrer dans une équipe multidisciplinaire de scientifiques. La médecine légale vétérinaire, historiquement peu documentée, a suivi de près la médecine légale humaine car elle en est complémentaire : il n'est pas rare de demander une expertise vétérinaire lorsqu'une composante animale est présente. L'animal peut être victime ou sujet de l'agression mais la démarche diagnostique est strictement identique (Cooper, Cooper 2007).

1.1- Contexte de l'autopsie

L'autopsie, également appelée nécropsie ou examen post-mortem, est un examen anatomopathologique (analyse macroscopique et microscopique des tissus et des organes) pratiqué sur un cadavre. Elle s'appuie sur la dissection suivie de l'observation macroscopique du cadavre et des organes et sur la description exhaustive des lésions. Elle permet ainsi d'identifier une affection ou une maladie et essaie d'en déterminer sa cause (Cabanie, Schelcher 1998). L'autopsie est en premier lieu un motif d'expertise vétérinaire relativement fréquent. Les cas de figure qui amènent une autopsie sont variés : l'expert peut être amené à déterminer si la mort résulte d'une maladie antérieure à la vente, à un accident ou encore à une faute professionnelle (Grepinet 1993). Parfois, il doit apporter des éléments en faveur ou non d'une négligence ou malveillance envers les animaux, en particulier reliée aux conditions d'élevage, ou estimer le moment de la mort pour des litiges concernant le transport ou la chasse par exemple (Munro, Munro 2008). L'examen nécropsique peut intervenir dans un cadre médico-légal. Dans ce cas, l'autopsie est réalisée sur demande du juge d'instruction par un expert nommé et officiellement mandaté. L'expertise est obligatoirement contradictoire, c'est-à-dire qu'elle doit être menée en présence des deux parties. Hors procédure judiciaire, l'autopsie peut être demandée par une compagnie d'assurance, par le propriétaire ou par un tiers. Dans tous les cas, il faut s'assurer que la pratique de l'examen ne viendra pas interférer avec une possible procédure judiciaire. Cette précaution est d'autant plus importante

lorsqu'une intoxication est suspectée car elle est souvent à l'origine de litige. Le propriétaire étant juridiquement propriétaire du cadavre de son animal, son accord est indispensable pour tout examen nécropsique (Crespeau 1992). L'autopsie médico-scientifique est demandée en général par le praticien. Elle permet d'améliorer les connaissances médicales, en particulier en confirmant ou infirmant un diagnostic posé du vivant de l'animal (Bellaïche 1957). Dans le cadre de la médecine vétérinaire collective, et particulièrement en médecine aviaire, l'autopsie peut aussi être un examen complémentaire. Elle est réalisée sur des animaux sacrifiés ou parfois sur les animaux retrouvés morts pour trouver la cause et remédier à une maladie collective.

La formation des vétérinaires à la médecine légale commence tout juste à se développer dans les pays anglo-saxons. Elle requiert pourtant des connaissances et une rigueur exemplaire, notamment vis-à-vis des procédures judiciaires : le maintien de la chaîne des preuves entre autres doit être scrupuleusement respecté sous peine d'invalider toute expertise (Cooper, Cooper 1998). Les vétérinaires qui pratiquent la médecine légale vétérinaire ont souvent suivi une formation auprès de la médecine légale humaine. La médecine légale est aussi perfectionnée que son homologue humaine : entomologie, odontologie, identification à partir d'ossements, etc. sont possibles mais pas aussi souvent utilisés en dehors des enquêtes avec des victimes humaines (Cooper, Cooper 2007).

L'autopsie doit être méthodique et rigoureuse. Pour établir un diagnostic nécropsique post-mortem, il est recommandé d'avoir recours à un vétérinaire anatomopathologiste qui sera plus à même de mener cet examen et d'y apporter les conclusions appropriées. Cependant, sur le terrain, le vétérinaire praticien peut être amené à réaliser lui-même l'autopsie. Il est important de préciser que l'autopsie, par définition, ne se fait qu'une fois, d'où la nécessité d'un suivi rigoureux des procédures de réalisation technique. La qualité de l'autopsie dépend de la maîtrise de la technique, de la rigueur et des connaissances en anatomie pathologique du praticien.

1.2- Préparation à l'autopsie

- Recueil de l'anamnèse et des commémoratifs

Le recueil de l'anamnèse et des commémoratifs est indispensable pour enrichir les conclusions de l'autopsie, notamment pour les analyses toxicologiques ou histologiques ultérieures. Les informations à regrouper sont :

- L'identification la plus complète de l'animal : espèce, race, sexe, âge.
- La description des faits : apparition des troubles, évolution, symptômes ante-mortem, exposition.
- Les conditions de vie de l'animal : environnement, exposition possible à des toxiques, alimentation et points d'abreuvement.
- Le passé médical de l'animal et les traitements en cours.
- Les circonstances de la mort et la conservation du cadavre.

Avant de débiter l'examen nécropsique, il est primordial de vérifier l'identité de l'animal, en particulier par le tatouage ou l'identification électronique (Lorgue 1992). Dans le cas où l'animal n'est pas identifié, et en particulier en cas de procédure judiciaire, il est indispensable d'identifier le cadavre. Il faut aussi se demander s'il on peut pratiquer l'autopsie, en particulier si celle-ci sera recevable si le propriétaire souhaite une procédure judiciaire (Cooper, Cooper 2007).

- Conservation du cadavre

L'autopsie doit être réalisée le plus tôt possible après la mort de l'animal pour éviter les altérations cadavériques et les lésions d'autolyse qui pourraient compliquer les observations et les analyses. Il est donc important de prendre en compte le délai entre la mort et l'examen nécropsique pour moduler ses conclusions (Brau, Cassaleux 2004). Lorsque le délai post-mortem est inconnu, il peut être demandé au vétérinaire d'estimer le moment du décès. Cette donnée, très utilisée en médecine légale humaine, a permis de mettre au point des techniques de datation nombreuses et complémentaires. La médecine vétérinaire utilise les mêmes techniques : température corporelle, biochimie post-mortem, électrostimulation, rigidité cadavérique, état de décomposition, entomologie et plus rarement histopathologie ou imagerie (Munro, Munro 2008). Idéalement le cadavre doit être conservé à + 4°C. On évite la congélation qui compromet la réalisation de certains examens complémentaires, notamment l'histologie. L'animal est placé au froid de préférence en position allongée, membres écartés et gueule ouverte (à l'aide d'un pas-d'âne) pour faciliter la dissection après la mise en place

de la rigidité cadavérique. L'utilisation de sacs poubelles est déconseillée pour la conservation du cadavre en chambre froide car ils ralentissent le refroidissement qui préserve le cadavre des phénomènes d'autolyse et de putréfaction (Raymond-Letron 2005).

○ Matériel

L'autopsie se pratique idéalement dans une salle dédiée, suffisamment spacieuse et facile à nettoyer, équipée de tables et d'un point d'eau. Le praticien s'équipe à minima d'une blouse et de bottes dédiées à cet usage, d'un tablier plastifié, de gants à usage unique, d'une charlotte et d'un masque. Le matériel nécessaire pour l'autopsie est listé dans le *Tableau 1*.

Tableau 1 - Matériel nécessaire pour la réalisation d'une autopsie (Raymond-Letron 2005).

des plateaux,	au moins 4 liens,	un scalpel,
des ciseaux mousses,	une pince à dent de souris,	une pince mousse,
un fils de suture épais,	un costotome,	une scie à plâtre,
des seringues,	un marqueur,	des barquettes,
une sonde cannelée,	un couteau,	un décimètre,
du matériel de prélèvement,	un appareil photographique avec un objectif macro.	

Pour les prélèvements toxicologiques, il est nécessaire de changer d'instruments et de gants entre chaque prélèvement effectué sur des organes différents. Il faut donc prévoir des ciseaux, des pinces et un scalpel par prélèvement prévu (Munro, Munro 2008).

1.3- Procédure de réalisation technique de l'autopsie

(Crespeau 1992 ; Raymond-Letron 2005 ; King et al. 2014)

L'autopsie doit passer par une observation systématique et exhaustive des structures organiques et tissulaires. Il ne faut pas hésiter à conserver des images photographiques des observations notées lors de l'autopsie, d'autant plus lorsqu'une procédure judiciaire est entreprise.

1.3.1 - Examen général externe

L'examen nécropsique commence par une observation complète de toute la surface corporelle. On observe :

- le stade de rigidité cadavérique,
- la conformation générale : score corporel, présence d'amyotrophie,
- l'âge et le sexe, à déterminer si inconnus (Cooper, Cooper 2007),

- la peau et les phanères : état du poil, présence d'ectoparasites, dermatose,
- les lésions cutanées ou sous-cutanées apparentes, sans oublier de regarder les coussinets et les espaces interdigitaux,
- les orifices naturels : présence d'écoulements, de souillures, de lésions, coloration des muqueuses,
- les yeux : aspects de la conjonctive, position du globe oculaire, surface cornéenne,
- la bouche et les dents,
- les cavités nasales,
- les nœuds lymphatiques superficiels.

L'animal est également pesé, cette étape sera très utile pour évaluer les doses toxiques d'exposition.

I.3.2 - Dépouillement

L'animal est placé en décubitus dorsal les membres attachés par des liens aux quatre coins du plateau ou de la table. Le dépouillement débute par une incision cutanée longitudinale médiale au scalpel du menton jusqu'au pubis. Une incision en face interne de chaque membre rejoint l'incision longitudinale. A ce stade, le plan sous cutané est observé : sa coloration, la vascularisation du conjonctif, les lésions sous-cutanées. Les membres antérieurs sont alors découpés au niveau du pli axillaire, au couteau ou au scalpel selon la taille de l'animal. Les nœuds lymphatiques pré scapulaires et axillaires sont recherchés et sectionnés pour observer leur coupe.

I.3.3 - Ouverture de la cavité abdominale

L'ouverture de la cavité abdominale se fait sur la ligne blanche avec la sonde cannelée de l'appendice xiphoïde jusqu'à la symphyse pubienne. Cette méthode permet de recueillir un éventuel épanchement, d'observer la position des organes *in situ* et de ne pas léser les organes. Puis la paroi musculaire abdominale est incisée le long du cercle de l'hypochondre. S'il est présent, le liquide d'épanchement est récolté en totalité grâce à une seringue pour en apprécier son volume. S'il s'agit de sang, on note la coagulation qui est à mettre en relation avec la conservation du cadavre puisqu'il existe une fibrinolyse cadavérique qui peut induire en erreur. Le péritoine pariétal et viscéral est observé : des signes de congestion, de lésions hémorragiques, de dépôts fibrineux, d'adhérence ou de lésions prolifératives inflammatoires

ou tumorales sont relevés. L'aspect et la forme du diaphragme sont également étudiés à ce stade. La coupole diaphragmatique est nettement concave à l'état normal.

I.3.4 - Ouverture et exploration de la cavité thoracique

L'ouverture de la cavité thoracique débute par une ponction du diaphragme. La présence du vide pleural, qui se manifeste par un appel d'air, est ainsi vérifiée. Puis le diaphragme est soigneusement détaché de ses insertions costales. Les côtes sont coupées au costotome sur la jonction costo-chondrale. Enfin le volet sternal est récliné vers l'avant et détaché du cadavre avec les muscles inférieurs de l'encolure. Cette opération permet de visualiser et prélever les glandes thyroïdes de part et d'autre de la trachée. A ce stade, les organes thoraciques sont examinés in situ, ainsi que les parois costales et les plèvres.

I.3.5 - Eviscération

La langue est détachée ventralement par une incision en V le long du bord interne des deux hémi-mandibules. Le larynx et le pharynx sont libérés par section des branches montantes de l'hyoïde. L'éviscération se fait quasiment d'un bloc en réclinant vers l'arrière le bloc langue-larynx-trachée puis les organes thoraciques et enfin abdominaux. A proximité des reins, on repère les glandes surrénales qui sont prélevées. Le rectum est ligaturé avant d'être sectionné. Seuls les organes urinaires et génitaux restent en place sur la carcasse. Les organes sont ensuite isolés les uns des autres. Dans un premier temps, le bloc cœur/poumon est isolé de l'appareil digestif : l'œsophage et la trachée sont séparés, la langue restant avec la trachée puis l'œsophage est extrait de son passage diaphragmatique. Le foie est isolé par section des vaisseaux hépatiques et du canal hépatique. Le bloc cœur/poumon est à son tour scindé : le diaphragme d'une part, le cœur avec son péricarde et les gros vaisseaux d'autre part, et enfin les poumons rattachés à la trachée, au larynx et à la langue. Le tube digestif est déroulé par dissection du mésentère. La rate est également isolée. L'appareil urinaire et génital est extrait de la carcasse après cassure de la symphyse pubienne par deux incisions parasagittales passant par les trous ovales.

I.3.6 - Appareil respiratoire

Il débute par un examen visuel complet du système respiratoire. On note l'aspect des poumons : forme, taille, couleur. Puis leur consistance après une palpation à plat. Le parenchyme pulmonaire est sectionné en divers endroits. La trachée et les bronches souches sont ouvertes par une incision longitudinale. On observe l'aspect des parois, du larynx, la présence d'un éventuel contenu dans la trachée. Pour finir, les cavités nasales peuvent être ouvertes par section longitudinale ou transversale à la scie à plâtre.

I.3.7 - Cœur

Dans un premier temps, le péricarde est ouvert. Un éventuel épanchement est immédiatement récupéré et quantifié. Puis le péricarde est entièrement détaché du cœur. On observe alors son aspect interne. On s'intéresse ensuite au cœur, à sa forme, sa couleur, sa consistance. Le cœur est ensuite ouvert en deux temps. Tout d'abord une section transversale au dessus de l'apex, à environ 1/3 de la hauteur des ventricules, permet de juger la taille et le rapport des cavités ventriculaires droite et gauche et par rapport à l'épaisseur du myocarde. On observe dans les cavités ventriculaires un caillot agonique qu'il est intéressant de prélever pour les analyses toxicologiques. L'aspect de ce caillot agonique, normalement non biphasique, peut orienter la suspicion vers un problème de coagulation. Dans un 2nd temps, le cœur est ouvert par une incision au ciseau de chaque côté du septum ventriculaire. Cette incision se prolonge dans l'aorte à gauche et le tronc pulmonaire à droite, puis les oreillettes sont incisées par les orifices atrioventriculaires.

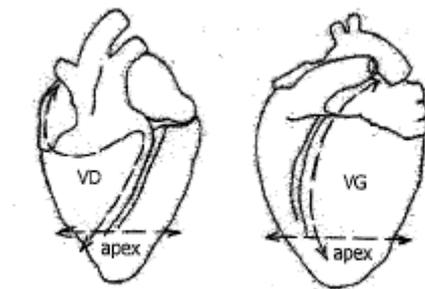


Figure 1 - Ouverture du cœur lors de l'examen nécropsique (Raymond-Letron 2005).

On observe les surfaces endocardiques, l'appareil valvulaire atrioventriculaire et sigmoïde, on recherche des communications inter-ventriculaires ou inter-auriculaires, ou toute autre anomalies de communication.

I.3.8 - Appareil digestif

L'étude de l'appareil digestif passe par l'ouverture systématique de tous les segments digestifs. L'ouverture de l'estomac se fait sur la grande courbure. Le contenu digestif est récupéré par segment. Puis le tube digestif est rincé et soigneusement étalé pour permettre l'étude de la muqueuse. A nouveau, l'analyse toxicologique impose ici des précautions. Si l'origine toxique est suspectée avant l'autopsie, il est préférable de ne pas ouvrir l'estomac et d'envoyer au laboratoire l'estomac ligaturé. Le foie est observé, puis palpé et incisé. La bile est collectée. Le pancréas est soigneusement disséqué de son attache duodénale.

I.3.9 - Appareil urinaire et génital

La vessie est ouverte et les urines sont entièrement récupérées. On observe alors la muqueuse vésicale. La dissection est prolongée jusqu'au bout de l'urètre. Les reins sont décapsulés puis sectionnés longitudinalement et médialement jusqu'au bassinnet. L'appareil génital est entièrement disséqué :

- ouverture de la bourse ovarique, de l'utérus et du vagin, section longitudinale des ovaires pour la femelle,
- dissection des testicules et de la prostate (perpendiculairement à l'urètre) pour le mâle.

I.3.10 - Organes hémato lympho-poïétiques

Les nœuds lymphatiques superficiels et mésentériques sont sectionnés. La rate est observée, palpée et sectionnée. Le thymus sur des animaux jeunes est prélevé. La moelle peut être observée après section d'une sternèbre ou d'un corps vertébral, ou encore d'un fémur.

I.3.11 - Système nerveux central

Pour l'observation de l'encéphale, la tête est d'abord dépecée et les muscles temporaux et mandibulaires sont réclinés. Une calotte osseuse de la boîte crânienne allant des orbites au trou occipital est réalisée avec une scie. L'encéphale est délicatement extrait par section des nerfs crâniens et du bulbe rachidien. L'hypophyse est retirée de la selle turcique pour être examinée. Le liquide céphalorachidien est prélevé et étudié. La surface méningée est également observée. On recherche une fluctuation anormale, puis on réalise des sections transverses multiples et régulièrement étagées de l'encéphale. Le cervelet, le bulbe rachidien

et le tronc cérébral sont examinés de la même façon. La moelle épinière est disséquée en région dorsale après la section des apophyses épineuses pour permettre la découpe d'un volet osseux à la scie à plâtre par des sections parasagittales. Enfin les racines des nerfs rachidiens sont sectionnées pour libérer la moelle épinière.

Les globes oculaires sont extraits avec les paupières en sectionnant les tissus péri-oculaires et le nerf optique. L'humeur aqueuse et le corps vitré sont prélevés.

I.3.12 - Appareil locomoteur

L'examen de l'appareil locomoteur se fait par mobilisation des membres et des articulations, dissection et ponction du liquide synovial, puis examen des surfaces cartilagineuses.

I.4- Description des lésions

I.4.1 – Description lésionnelle

(Raymond-Letron 2013)

Le bilan d'une autopsie, présenté sous forme d'un rapport d'autopsie, distingue la description lésionnelle du diagnostic nécropsique. La description lésionnelle doit être précise, rigoureuse et standardisée. Elle permet de justifier le diagnostic nécropsique qui la suit et, contrairement à celui-ci, la description ne contient aucun terme diagnostique.

I.4.1.1- Localisation

La localisation est générale (organe ou tissu concerné) puis spéciale (site topographique exact). On précise par exemple le lobe concerné sur le foie ou le poumon, la couche atteinte des organes tubulaires (séreuse ou muqueuse) ou du rein (cortical ou médullaire)...

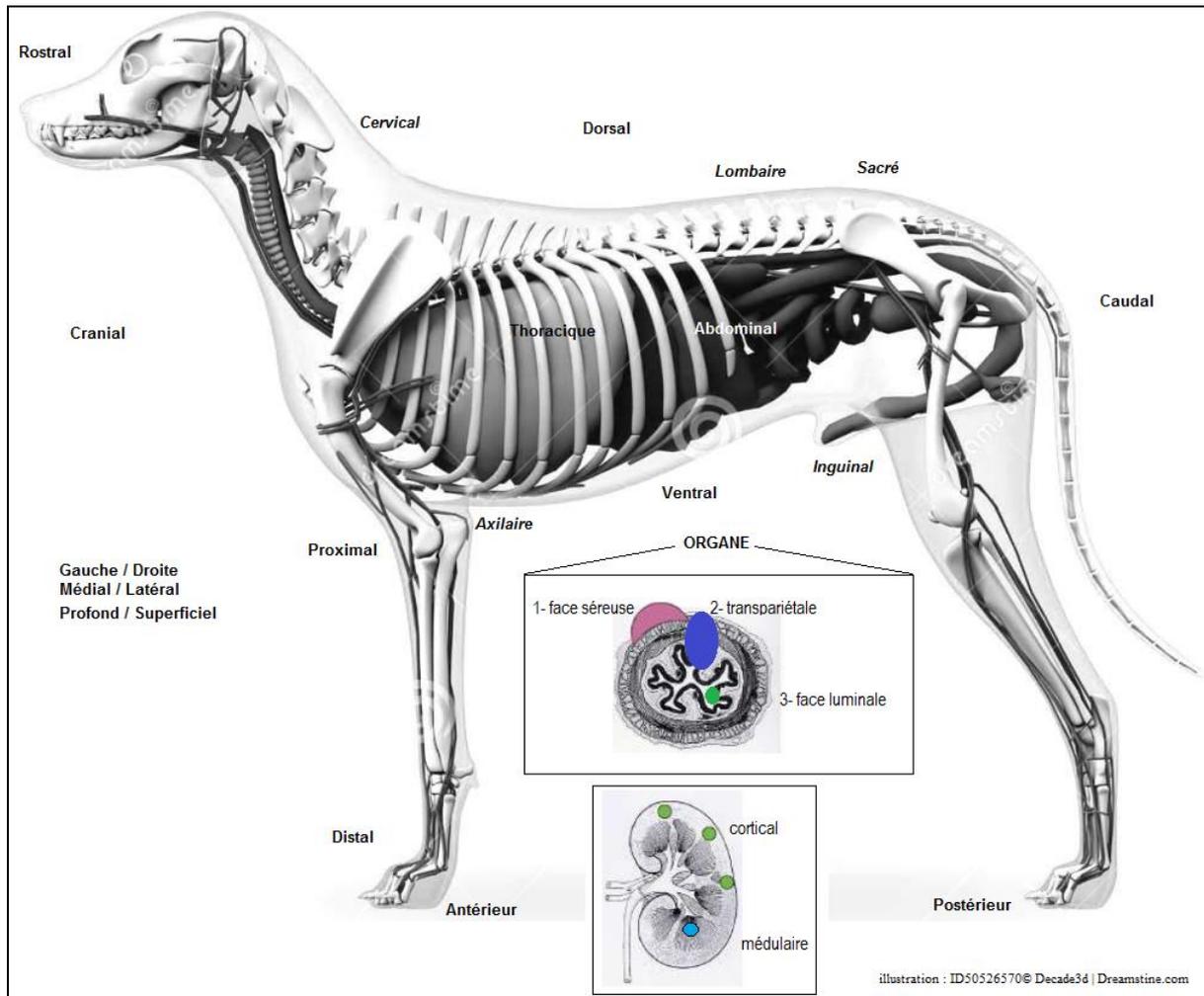


Figure 2 – Exemples de terminologie utilisée pour décrire la localisation d’une lésion (D’après Raymond-Letron 2013).

1.4.1.2- Distribution

Il s’agit de dénombrer ou d’estimer le nombre de lésions et de représenter leur répartition. La distribution reflète souvent les mécanismes lésionnels généraux.

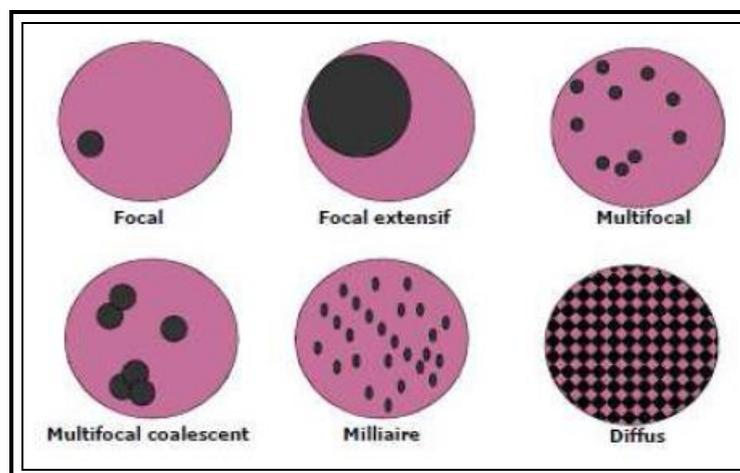


Figure 3 – Exemples de terminologie utilisée pour décrire la distribution d’une lésion (Raymond-Letron 2013).

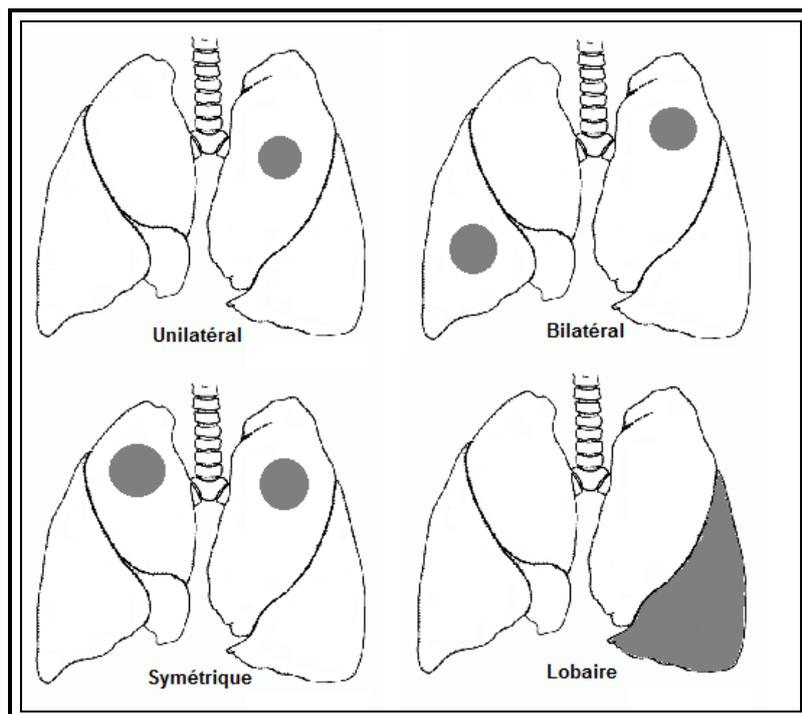


Figure 4 – Autres exemples de terminologie utilisée pour décrire la distribution d’une lésion
(D’après Raymond-Letron 2013).

1.4.1.3 - Forme

La lésion peut être en relief, en dépression ou plate. On précise également le caractère peu ou bien délimité de la lésion concernée.

1.4.1.4 - Taille et extension

L’idéal est de donner, à l’aide d’un décimètre, une mesure exacte de la lésion. Par défaut on peut aussi faire une évaluation subjective gradée ou la comparer à une référence culturelle.

1.4.1.5 - Couleur

La description de la couleur de la lésion est relativement subjective. Les variations par rapport à la couleur physiologique sont intéressantes : on notera par exemple une pâleur ou au contraire une couleur plus foncée, ou encore une couleur bleutée (cyanose). L’homogénéité ou l’hétérogénéité du tissu est aussi à rapporter. Il est intéressant de noter un changement de couleur et si possible d’utiliser une description standardisée (Cooper, Cooper 2007).

1.4.1.6 - Consistance et texture

La consistance est le caractère physique de fermeté de la zone évaluée par une palpation avec la pulpe des doigts. La texture se réfère plutôt au caractère lisse ou rugueux de la surface étudiée.

Tableau 2 - Terminologie pour décrire la consistance d'une lésion (Raymond-Letron 2013).

Cassant	Gélatineux	Huileux
Caséeux	Granuleux	Rugueux
Mou	Graisseux	Caoutchouteux
Ferme	Crissant	Aqueux
Friable	Dur	Fluide
Fluctuant	Mucoïde	Visqueux

1.4.1.7 - Aspect à la coupe

Les organes sont systématiquement incisés. La coupe permet d'évaluer les structures plus profondes de l'organe. Une exsudation importante ou au contraire un crissement à la coupe doit être relevé.

1.4.1.8 - Particularités

La description est complétée par des éléments supplémentaires spécifiques d'organe. On décrit le contenu des organes luminaux, une odeur particulière d'un tissu, un éventuel son crépitant ou crissant à la coupe...

La description lésionnelle est, comme son nom l'indique, purement descriptive mais elle conduit ensuite à la formulation d'un diagnostic macroscopique qui conclura le rapport d'autopsie.

I.4.2 – Diagnostic macroscopique et rapport d'autopsie

(Raymond-Letron 2013)

Le diagnostic macroscopique (ou morphologique ou lésionnel) est formulé comme suit :

- **Organe,**
- **Localisation et distribution,**
- **Nature de la lésion**

Lorsque l'examen nécropsique le permet, on peut avancer un diagnostic quant à la nature de la lésion : dégénérative, nécrotique, inflammatoire neutrophilique, lymphoplasmocytaire, ulcérate, exsudative, œdémateuse, hémorragique, thrombotique, tumorale, etc.

- **Qualificatif temporel**

La lésion est qualifiée d'aigüe lorsque qu'elle peut être datée de moins de 4 jours par la présence d'une réaction inflammatoire fibrineuse ou par une phase vasculo-exsudative prépondérante. Elle est qualifiée de chronique lorsqu'on peut affirmer que la lésion date de plus de 15 jours ce qui se traduit par une phase cellulaire dominante avec éventuellement une réaction inflammatoire fibreuse. Le terme « subaigu » est réservé aux cas douteux.

- **Intensité**

L'intensité de la lésion peut être décrite sur une échelle de 3 (léger, modéré, marqué) ou de 5 (minime, léger, modéré, marqué, sévère).

- **« Avec »**

On peut ajouter des éléments complémentaires qui semblent importants dans la conclusion diagnostique, il peut s'agir d'une particularité ou encore d'un élément causal présumé.

Le bilan lésionnel liste les lésions majeures retenues comme significatives pour la conclusion nécropsique. Elles sont datées et gradées et éventuellement reliées entre elles (Cabanie, Schelcher 1998).

L'autopsie n'est qu'un maillon du diagnostic post-mortem. Elle est souvent accompagnée d'exams complémentaires faisant intervenir différents domaines de la médecine vétérinaire : hématologie, biochimie, parasitologie, microbiologie, histologie, cytologie, toxicologie et parfois imagerie (radiologie, scanner ou IRM) (Cooper, Cooper 2007).

1.5- Prélèvements

L'intérêt de l'examen nécropsique réside surtout dans les examens complémentaires qu'il permet (Braun, Cassaleux 2004), en particulier en toxicologie. Le vétérinaire doit trouver un compromis entre la réalisation des prélèvements indispensables à la mission qui lui a été confiée, sans multiplier les dépenses inutiles par des examens superflus. Deux types de prélèvements sont effectués, notamment dans un cadre d'expertise : des prélèvements immédiatement analysés, et des prélèvements conservatoires (Crespeau 1992).

On s'intéresse ici aux deux examens qui entrent en jeu dans un diagnostic toxicologique. Les prélèvements concernant la bactériologie par exemple ont leur intérêt dans le diagnostic différentiel mais ne seront pas abordés dans ce sujet.

1.5.1- Histopathologie

(Cabanie, Schelcher 1998 ; Molle-Proudhon 2011)

L'histologie désigne l'étude des tissus. Certains toxiques provoquent des lésions histologiques fortement évocatrices. L'examen histopathologique se déroule en 3 temps : le prélèvement, la préparation par un laboratoire et la lecture.

1.5.1.1 - Prélèvement et fixation

Le praticien est amené à réaliser le prélèvement et sa fixation avant l'envoi au laboratoire. Les prélèvements doivent être réalisés le plus tôt possible après la mort de l'animal. L'échantillon mesure environ 0,5 à 1 cm côté, il est prélevé à la lame froide et concerne les lésions macroscopiques avec des marges en tissu sain. Le contenant doit avoir un col large pour une extraction plus facile (Lorgue 1992).

La fixation a pour but d'immobiliser le tissu dans un état proche du vivant et d'en assurer sa conservation. Elle empêche l'autolyse par dénaturation enzymatique, la putréfaction, la cytolysse et la desquamation. Cette étape se fait immédiatement après le prélèvement en immergeant l'échantillon dans un volume de fixateur équivalent à 10 à 20 fois le volume de la pièce. On utilise classiquement le formol tamponné à 10%, c'est-à-dire un mélange de 10 volumes de formol commercial (40% formaldéhyde dans l'eau) avec 90 volumes de tampon phosphate pH = 7,2. L'imprégnation prend 48 heures mais elle est fonction de la taille du prélèvement.

L'utilisation du formol a été restreinte à cause de son risque cancérigène. Cependant, il n'existe pas d'alternative pour la fixation de prélèvements histologiques et le formol est toujours utilisé dans ce but. Les flacons de formol prêts à l'emploi sont disponibles pour les praticiens auprès des laboratoires d'anatomie pathologique.

L'envoi du prélèvement pour l'histologie requiert les mêmes précautions que les prélèvements pour la toxicologie. Une attention particulière doit être prise concernant la couche absorbante qui se doit d'être importante.

1.5.1.2 - Préparation des lames histologiques

La préparation des lames est effectuée par les techniciens du laboratoire histologique. Elle comprend :

- la **circulation** (ou inclusion)

Elle a pour but de rigidifier les tissus et donc de permettre une coupe fine. Elle consiste à éliminer l'eau des tissus pour la remplacer par la paraffine. Elle est composée elle-même de 3 étapes :

La *déshydratation* par bains successifs dans un agent déshydratant en concentration croissante (éthanol, butanol, propanol...)

L'éclaircissement si on a utilisé un agent déshydratant non miscible à la paraffine tel que le 2-propanol.

L'imprégnation par la paraffine à une température proche de son point de fusion (environ 60°C).

- **l'enrobage** consiste à donner un support externe pour permettre de réaliser des coupes. Il s'agit souvent d'une inclusion dans un bloc de paraffine.
- **la coupe au microtome** d'une épaisseur de 5 à 10µm.
- **l'étalement sur lame**
- **la coloration** se fait classiquement à l'Hématéine-Eosine (H.E.)
- **le montage** entre lame et lamelle pour la lecture au microscope optique.

1.5.1.3 - Lecture

La lecture d'une lame au microscope optique demande de solides connaissances anatomiques et histopathologiques et de la rigueur. Elle débute par un examen à l'œil nu de la lame puis au microscope du grossissement le plus faible vers le plus fort. Les conclusions dépendent de la représentativité de la lame, qui commence dès le prélèvement à l'autopsie.

I.5.2- Toxicologie

Il est préférable de contacter le laboratoire d'analyses toxicologiques ou le C.N.I.T.V. (Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires) avant de commencer l'autopsie pour s'assurer de la nature et du conditionnement des prélèvements à effectuer.

Les prélèvements toxicologiques doivent avoir lieu le plus tôt possible. En effet, la quantité de toxiques dans l'organisme diminue même après la mort par les phénomènes chimiques et enzymatiques de la décomposition. Un délai trop important entre le décès et les prélèvements post-mortem peut conduire à des difficultés d'interprétation : le toxique peut avoir disparu ou être détecté en trop faible quantité pour affirmer avec certitude que l'intoxication peut être la cause du décès. Au contraire certains organes, suite à l'autolyse post-mortem, libèrent de leur cellule les toxiques à tropisme intracellulaire, qui se retrouvent en grande quantité dans le sang et peuvent conduire à des diagnostics par excès (Pepin et al. 1998).

I.5.2.1 - Prélèvements : nature et quantité

Les prélèvements doivent, par leur nature, leur qualité et leur quantité, permettre au laboratoire de travailler dans les meilleures conditions. En l'absence de certitude sur la nature du toxique, les prélèvements doivent permettre d'effectuer n'importe quelle recherche ultérieurement (Lorgue 1992).

Il faut impérativement récolter (Keck 1999 ; Lorgue, Lechenet, Rivière 1987) :

- le contenu stomacal dans sa totalité. En général, on prélève l'estomac ligaturé à ses deux extrémités.
- le foie, en totalité ou en partie, au moins 100 grammes et jusqu'à 250g.
- un rein entier.

Selon les suspicions :

- la graisse mésentérique ou péri-rénale de préférence à hauteur de 100-200g
- les urines, la plus grande quantité possible. Le relâchement des sphincters lors de la mort ne permet pas, en général, de recueillir une grande quantité d'urine.
- du sang : caillot agonique intracardiaque

Pour un champ d'investigation plus large, on peut rajouter

- l'encéphale dans sa totalité,
- des phanères (20-30g),
- les yeux,
- la bile.

Remarque : prélever le contenu intestinal est en général inutile car le toxique est déjà absorbé ou dégradé à ce niveau dans la plupart des cas.

En fonction des commémoratifs, il peut être nécessaire de faire des prélèvements dans l'environnement : l'aliment (1kg), l'eau de boisson, les appâts (en totalité), ou les plantes suspectes. Pour l'identification d'une plante, on récolte la plante entière si possible ou un rameau feuillé avec une inflorescence. Les échantillons sont séparés et étalés sur le papier journal encadrés de deux plaques de cartons rigides. Les organes volumineux (racine, fruit) sont mis en sachet plastique puis dans un emballage en carton.

Dans le cas où le toxique est connu, les échantillons envoyés dépendent de la nature du produit et sont décrits dans le Tableau 3.

Tableau 3 - Prélèvements recommandés pour l'analyse toxicologique selon le toxique suspecté (Volmer, Meerdink 2002 ; Keck 1999 ; Jaquin 2001 ; C.N.I.T.V. 2007).

En gras sont représentés les prélèvements à effectuer en priorité.

	Contenu digestif	Foie	Rein	Encéphale	Sang	Sérum	Humeur aqueuse	Urine	Graisse	Appât ou aliment suspect
Alcaloïdes	x	x	x	x				x		x
AVK		x	x		x					x
Arsenic	x	x	x					x		x
Carbamate	x	x	x	x	x		x			x
Cuivre		x	x			x				
Ethylène glycol		x	x	x			x	x	x	
Herbicides	x	x	x					x		x
Plomb	x	x	x	x		x		x		x
Organophosphorés	x	x		x	x		x			x
Organochlorés	x	x		x		x			x	x
Plantes	x	x	x					x		x
Monoxyde de Carbone					x					
Irritants et caustique	x									
Métaldéhyde	x							x		x
Strychnine	x	x	x	x				x		x
Crimidine	x	x	x	x				x		x
Scilliroside	x	x			x					x
Cholécalciférol	x	x								x
Chloralose	x					x				x
Chlorate de sodium	x									x
Perméthrine	x	x		x						x
Autres médicaments		x				x	x	x	x	
Pétrole et dérivés	x	x								x
Engrais NPK	x				x	x		x		x

En médecine humaine, les prélèvements à l'autopsie sont systématiques : le sang cardiaque et périphérique, les urines, le foie, l'encéphale, l'humeur vitrée, les cheveux et le contenu gastrique sont toujours prélevés en vue d'un dépistage large de toxiques ou de médicaments. Cette précaution évite de passer à côté de substances d'intérêt dans le cadre d'une enquête (Drummer 2007).

1.5.2.2 - Conditionnement

La préparation et le conditionnement des prélèvements sont essentiels. L'analyse toxicologique requiert des précautions dans cette préparation : les échantillons doivent être placés séparément dans un emballage individuel hermétique pour éviter les contaminations (Volmer, Meerdink 2002), de préférence dans des pots et poches en plastique de qualité alimentaire (polyéthylène) (Keck 1999). Les contenants en verre peuvent être utilisés mais ils nécessitent un emballage protecteur efficace. Les contenants en plastique ou aluminium sont à éviter car des interférences ou des contaminations sont possibles (Volmer, Meerdink 2002). Aucune substance ne doit être ajoutée, ni conservateur, ni antiseptique, ni fixateur. Les matières absorbantes ne doivent pas être en contact direct avec l'échantillon et les récipients ne doivent pas être totalement remplis. Les échantillons sont correctement et individuellement identifiés à l'extérieur du contenant avec le nom de l'animal et du propriétaire, la date et le tissu prélevé.

Le colis doit être hermétique, isotherme et solide avec une couche absorbante (papier journal) : boîte en polystyrène de préférence, à défaut boîte en carton rigide. Le polystyrène a l'avantage d'être un bon isolant thermique, de résister au choc tout en étant léger (Keck 1999). Il est tout de même préférable de le placer également dans un carton. L'emballage doit porter de façon visible le symbole « échantillon biologique » (Roch 2008). L'expédition du colis doit être la plus rapide possible. En attendant l'expédition, l'échantillon doit être conservé au froid positif. Au-delà de 12 heures, il est nécessaire de congeler les échantillons (-20°C) (Volmer, Meerdink 2002). D'autres auteurs affirment que la réfrigération suffit pour les premières 48 heures (Keck 1999). Dans tous les cas il faut assurer ce maintien du froid pendant le transport en mettant des poches de glace dans le colis. La glace doit représenter trois fois le poids de l'échantillon (AFMES 2012). Le colis est expédié par la poste en urgence et on évite la veille du week-end ou des jours fériés. Dans le cas où l'échantillon ne peut pas être envoyé immédiatement, il est nécessaire de congeler le prélèvement.

Le colis doit être accompagné de la fiche de commémoratifs qui apporte le maximum de renseignements et notamment (Keck 1999) :

- nom et adresse du vétérinaire,
- nom et adresse du propriétaire,
- espèce, race, sexe, âge, nombre d'animaux atteints, nombre d'animaux sur lesquels des prélèvements ont été effectués,

- nature et date des prélèvements,
- date d'apparition des symptômes,
- date de la mort,
- description des symptômes et des lésions constatées à l'autopsie,
- toute autre indication susceptible d'orienter la recherche de toxiques.

Pour les plantes, il faut indiquer la date et le lieu de la récolte, la répartition de la plante et les éventuels traitements phytosanitaires effectués.

Le perfectionnement des méthodes d'analyses permet maintenant de détecter une quantité de toxique de plus en plus faible. L'interprétation est alors plus difficile. Il est préférable de quantifier le toxique plutôt que de déterminer simplement sa présence. Un des principes de la toxicologie a été énoncé par Paracelse au XVI^e siècle : « Tout est poison, rien n'est poison : seule la dose détermine ce qui n'est pas un poison ». La quantification est donc aussi importante que la détection pour pouvoir incriminer un toxique comme cause des lésions observées et de la mort. Or, la quantité de toxique présent dans l'organisme dépend aussi du temps entre l'exposition et l'échantillonnage, ce qui complique encore l'interprétation des résultats toxicologiques (Volmer, Meerdink 2002). En effet le toxique est progressivement métabolisé du vivant de l'animal mais aussi post-mortem par des facteurs chimiques, enzymatiques et bactériens. Un toxique détecté en faible quantité a donc pu se trouver auparavant en quantité plus importante dans l'organisme. Les données manquent pour établir une cinétique de la variation des concentrations des toxiques dans l'organisme selon à la fois les molécules et les tissus incriminés. De plus, le moment de l'intoxication étant rarement connu avec précision, les inconnues sont finalement trop nombreuses pour établir à partir des prélèvements post-mortem la quantité de toxique à laquelle l'animal a été exposé.

1.6- Toxicologie analytique

Les méthodes d'analyses toxicologiques doivent répondre à plusieurs attentes : permettre une identification du ou des toxiques présents alors que la recherche n'est pas toujours orientée, et le quantifier pour pouvoir en prédire son imputabilité dans les signes décrits. Selon les toxiques recherchés et leur distribution organique, une préparation de l'échantillon est nécessaire avant la mise en œuvre de la recherche qui se décompose en méthode de séparation puis de détection (ou identification/quantification).

1.6.1- Toxicologie analytique en médecine humaine

L'analyse toxicologique en médecine légale est relativement développée en médecine humaine. Les applications sont nombreuses et permettent non seulement d'identifier une intoxication mais également tous les médicaments potentiellement administrés avant le décès. Un autre domaine d'application ayant contribué au perfectionnement de ces méthodes d'analyses est la lutte anti-dopage dans le milieu sportif (Smith et al. 2007).

La toxicologie analytique post-mortem peut se permettre des délais de résultats plus longs que la toxicologie clinique. En revanche, elle nécessite une grande spécificité et une précision des résultats d'autant plus si ceux-ci sont utilisés par la justice. Dans ce cas, les résultats doivent impérativement être confirmés par deux méthodes analytiques différentes (Whyman 2012).

1.6.1.1- Méthodes de séparation

○ Extraction

L'extraction des substances à partir des matrices post-mortem est plus délicate. A cause de l'hémolyse, le plasma et le sérum ne sont pas toujours disponibles et c'est le sang total qui est utilisé et extrait par phase solide (SPE). Il s'agit d'un procédé d'extraction qui sépare les composés d'un mélange par adsorption sélective sur une phase solide en fonction de leurs propriétés physico-chimiques. La phase solide peut être du charbon actif ou du gel de silice. L'extraction peut aussi se faire par phase liquide et utilise des solvants choisis en fonction de leur sélectivité et de la solubilité du composant dans ces solvants non-miscibles entre eux. L'éther, le chloroforme et le toluène, solvants organiques autrefois très utilisés pour l'extraction, sont abandonnés pour des raisons sanitaires et environnementales au profit du

1-chlorobutane, du mélange hexane/alcool iosamylique (98:2), de l'acétate de butyl ou du mélange dichlorométhane/alcool isopropylique/acétate d'éthyle (1:1:3). Une méthode d'extraction par méthylation a été validée sur les composés acides tels que les diurétiques, la buprénorphine ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens (Drummer 2007).

- *Chromatographie*

La chromatographie est une méthode physico-chimique de séparation des constituants d'un mélange (Fallon, Booth, Bell 1987). Le principe de la séparation des solutés est fondé sur la différence de distribution d'un composé entre deux phases non miscibles selon leurs affinités physico-chimiques. La phase stationnaire est fixe, il peut s'agir d'un liquide ou d'un solide, la seconde phase est dite mobile. La phase stationnaire retient la migration des solutés entraînés par la phase mobile. Les interactions physico-chimiques (charge, poids moléculaire, solubilité, liaisons) entre les solutés et les deux phases provoquent des vitesses de migration relativement spécifiques à chaque composant (Caude, Jardy 1996). Selon la nature de la phase mobile, la chromatographie est dite :

- en phase liquide, dont la chromatographie en phase liquide haute performance et la chromatographie sur couche mince ;
- en phase gazeuse (Fallon, Booth, Bell 1987).

Enfin, selon le support de la phase stationnaire, on distingue :

- la chromatographie planaire (CCM), lors de laquelle la phase mobile se déplace par capillarité sur un support solide.
- la chromatographie sur colonne dans laquelle la phase mobile percole sur la phase stationnaire avec un débit constant, ou une pression constante dans le cas d'un gaz.

Les résultats obtenus sont la distance parcourue par le composé sur un temps donné dans la chromatographie planaire et le temps pour parcourir une distance fixée (en l'occurrence la longueur de la colonne) pour la chromatographie sur colonne. Dans tous les cas, ces résultats traduisent la vitesse de déplacement des solutés qui est la grandeur d'intérêt pour l'identification des substances (Caude, Jardy 1996).

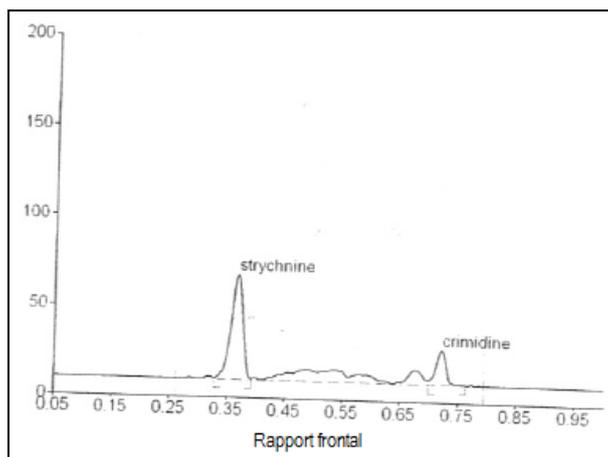


Figure 5- Résultats d'une chromatographie en couche mince associée à une densitométrie.

[Laboratoire toxicologique de Lyon]

L'abscisse est le rapport frontal qui reflète la distance parcourue lors de la chromatographie planaire.

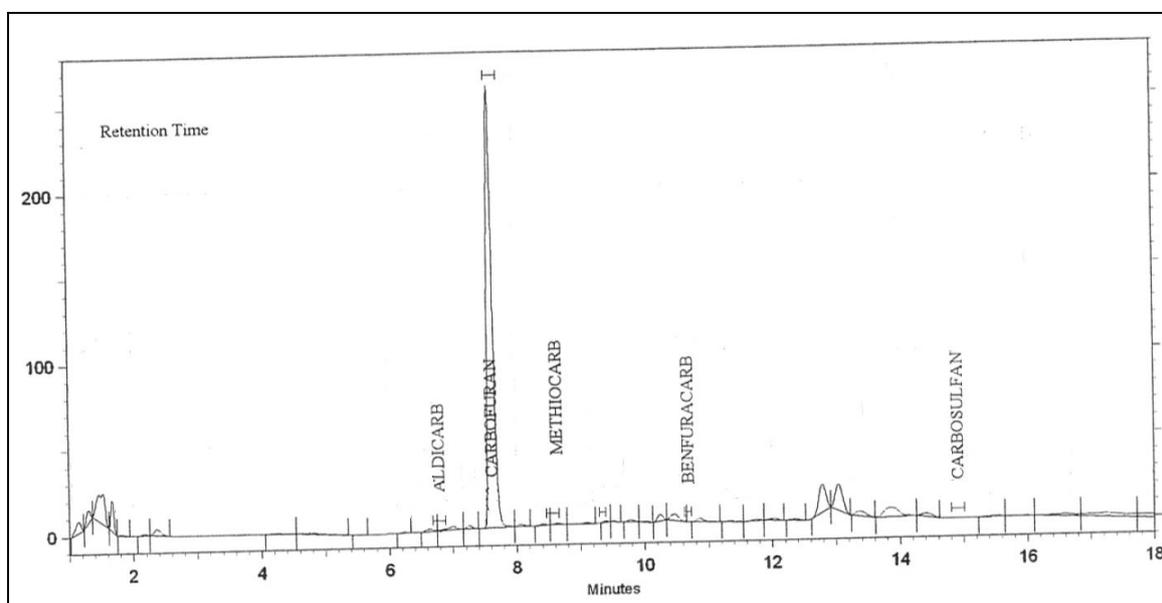


Figure 6 - Résultats d'une chromatographie sur colonne pour la recherche de carbamates.

[Laboratoire toxicologique de Lyon]

Le résultat est exprimé en unité de temps.

Selon sa finalité, la chromatographie peut être analytique ou préparatoire. La chromatographie analytique a pour but l'identification des composants, ce qui est le point d'intérêt en toxicologie, suivie éventuellement d'une quantification. Dans ce cas, on choisit une phase stationnaire plus affine pour le soluté que la phase mobile. Il s'agit du développement par élution. Ces précautions permettent de limiter l'étalement des bandes et d'assurer une séparation rapide des constituants avec une bonne détectabilité. Dans le cas de mélange complexe, une élution graduée peut être mise en œuvre. Elle consiste à adapter graduellement les conditions opératoires au cours de la migration en agissant sur la température ou la composition de la phase mobile. Cette technique est cependant beaucoup

plus contraignante. La chromatographie préparatoire est une étape qui a pour but de séparer et de récupérer les composants en des quantités permettant une utilisation ultérieure (Caude, Jardy 1996). La chromatographie est souvent couplée à un système d'identification et de quantification comme la densitométrie ou la spectrométrie (Fallon, Booth, Bell 1987).

La chromatographie gazeuse (GC) requiert l'extraction des analytes des produits biologiques puis leur dérivation pour les rendre volatiles avant d'être entraînés par un gaz inerte servant de phase mobile. La séparation a lieu sur les différences de volatilité et de solubilité entre les phases (Smith et al. 2007). Cette technique nécessite, pour la volatilisation, une stabilité thermique des composés, ce qui limite l'étendue de l'application (Caude, Jardy 1996). La chromatographie gazeuse est souvent complétée par un détecteur à la sortie de la colonne. Celui-ci est variable, il s'agit le plus souvent d'un spectromètre de masse (SM) ou d'un détecteur à absorption électronique (ECD). Plus rarement on trouve des détecteurs par ionisation de flamme (FID), thermoïonique (TID) par photo-ionisation ou encore la spectrométrie infrarouge (Poole 2015).

Dans la chromatographie en phase liquide (LC), les analytes sont dissous dans la phase mobile qui circule au contact d'une phase stationnaire. Leur séparation se fait en fonction de leurs différences de solubilité dans les phases. La technique a été perfectionnée en modifiant les caractéristiques de la phase stationnaire et en produisant un flux sous haute pression et a été appelée « haute performance » puis « ultra performance », permettant des résultats comparables à la chromatographie gazeuse. Comparée à la celle-ci, la chromatographie liquide nécessite moins de préparation d'échantillon, en particulier une absence de dérivation, et permet l'identification de composés thermolabiles ou polaires, inadaptés à la chromatographie gazeuse. Elle est associée à des systèmes de détection tels les spectrophotomètres UV, détecteurs électrochimiques ou fluorescents et spectromètres de masse (Smith et al. 2007).

○ *Electrophorèse capillaire*

L'électrophorèse capillaire est en résurgence dans les laboratoires de toxicologie face aux méthodes chromatographiques. Elle sépare les composants sur l'interaction avec la phase absorbante et leur mobilité électrophorétique entre les électrodes mais aussi sur leur charge et leur masse moléculaire. L'électrophorèse capillaire ne requiert que de petits volumes d'échantillon et permet des analyses larges et simultanées de molécules acides ou basiques et

hydrosolubles ou non. Elle est associée aux mêmes systèmes de détection que la chromatographie liquide. Cependant, une des limitations est la faible quantité d'échantillon récupérée à la sortie du dispositif qui ne permet pas de l'utiliser comme méthode de séparation préalable à une utilisation ultérieure de l'échantillon (Smith et al. 2007).

1.6.1.2- Méthodes d'identification : la spectrométrie

La spectrométrie est l'étude du spectre d'un phénomène physique qui se traduit par sa décomposition sur une échelle pouvant se ramener à une énergie. La spectrométrie de masse se base sur la séparation gazeuse de molécules selon leur rapport masse / charge (m/z). Elle permet de détecter et d'identifier des molécules par comparaison avec des banques de spectres, mais aussi de les quantifier. Elle suit souvent une séparation par chromatographie, en particulier gazeuse. Le spectromètre comprend un système d'ionisation et un analyseur de masse. Les molécules sont ionisées avec une énergie connue par une ionisation électronique ou chimique. L'analyseur quadripolaire (QMS) sélectionne les ions sur leur rapport masse / charge pour les identifier et les quantifier. Il est composé de 4 électrodes soumises à une tension continue et une tension alternative réglées de telle façon que les ions d'un rapport m/z donné parviennent jusqu'au détecteur. Il peut également scanner un large panel de ratio m/z . L'association GC-QMS est une méthode très utilisée depuis deux dernières décennies. La limite minimale de quantification est de 1 à 10 ppb. Le plus souvent, deux spectrométries de masse sont appliquées en série après la chromatographie. La mise en série des spectromètres de masse permet pour le premier d'identifier et pour le second de quantifier l'ion sélectionné (Smith et al. 2007). L'objectif est de pouvoir analyser rapidement un grand spectre de molécules avec des limites de détection basse : sur du sang post-mortem, plus de 400 composés peuvent être recherchés avec une méthode LC-MS-MS avec un seuil de détection à $5\mu\text{g/L}$ (Smith et al. 2007).

La spectrométrie de masse à trappe ionique crée un champ magnétique qui piège les ions et les éjecte séquentiellement en masse. Cela permet d'améliorer la résolution, et présente comme avantage de pouvoir mesurer un ion donné à la demande, alors que le quadripôle basique analyse les ions au fur et à mesure de leur arrivée (Smith et al. 2007).

Les méthodes de spectrométrie de masse ont été perfectionnées pour augmenter la précision des mesures et diminuer le temps d'analyse. Ces méthodes sont cependant plus onéreuses :

- La spectrométrie de masse à secteur magnétique trie, grâce à un champ magnétique constant, les ions en fonction de leur trajectoire qui dépend du ratio masse / charge. La résolution et la précision sont 10 fois plus élevées que pour un QMS (Smith et al. 2007).

- La spectrométrie de masse isotopique mesure la masse et le ratio d'isotope stable issu d'une combustion. La principale application de cette méthode est de déterminer l'origine d'une même molécule en fonction du ratio d'isotope présent, elle permet, dans la recherche de produit dopant, d'identifier les molécules d'origine endogène de leurs analogues exogènes, comme la testostérone par exemple (Smith et al. 2007).

- La spectrométrie de masse à temps de vol (TOF : Time-of-flight) détermine le ratio masse/charge des ions en mesurant le temps de vol après une accélération par un champ magnétique de valeur connue dans un tube vide par haute tension. Les performances sont similaires à la spectrométrie à secteur magnétique mais le temps d'analyse est beaucoup plus rapide (Smith et al. 2007).

- La spectrométrie de masse à résonance ionique cyclotronique est la méthode la plus précise concernant la toxicologie analytique. Elle détermine le ratio masse / charge des ions en se basant sur la fréquence cyclotronique des ions, c'est-à-dire sur la rotation d'une particule dans un champ magnétique uniforme. Cette méthode est très précise, possède une excellente résolution et permet d'analyser un large spectre de molécules, y compris les macromolécules. Son coût très élevé est un frein majeur à sa diffusion (Smith et al. 2007).

Plus rarement utilisé, la spectrométrie (ou spectrophotométrie) d'absorption atomique est utilisée pour déterminer la concentration de certains métaux et minéraux dans un échantillon. Basée sur des méthodes optiques, elle s'intéresse à l'absorption de photons monochromatiques par les atomes. Cela se traduit par la disparition de spectres de longueurs d'onde caractéristiques lorsqu'une lumière polychromatique traverse la vapeur atomique. Puis, pour une longueur d'onde donnée, l'absorption est proportionnelle à la quantité d'atome présent ce qui permet d'en déduire, grâce à des tables, une quantification. La spectrophotométrie infrarouge est très proche et se base sur les spectres d'absorption dans l'infrarouge (Viala 1998).

1.6.1.3- Nouveautés en toxicologie analytique humaine

La toxicologie analytique humaine développe ses recherches pour multiplier les supports d'analyses. En effet, si les urines et les cheveux sont les échantillons les plus courants, en particulier du vivant du sujet, des études ont démontré la capacité à détecter des médicaments dans des taches de sang séché ou encore dans les ongles (Meyer 2014).

En humaine, la « toxico-génomique » a fait l'objet de quelques publications qui s'intéressent à la variabilité individuelle quand à l'interprétation des effets des toxiques selon la concentration mesurée dans l'échantillon biologique (Gaensslen 2001).

Un autre challenge de la toxicologie humaine est de différencier, à la vue des résultats d'analyses, les expositions chroniques à certains médicaments de l'overdose. Pour cela, les toxicologues s'intéressent en général aux cheveux (Karch 2001).

La corrélation entre les mesures post-mortem et les concentrations ante-mortem n'est pas évidente. En effet, les concentrations post-mortem peuvent être altérées par le délai post-mortem, la méthode d'échantillonnage et de conservation de l'échantillon, les propriétés physiques de la molécule et éventuellement de la quantité de toxique non encore absorbée au moment de la mort. Les dosages dans l'encéphale sont parfois utilisés pour les opioïdes en raison de son isolement de la circulation générale par la barrière hémato-méningée qui le préserve des redistributions post-mortem (Karch 2001).

Enfin, des biocapteurs électrochimiques ont été développés pour une détection sur le terrain de toxiques, en particulier l'arsenic et le cyanure (Yanes-Sedeno et al. 2014).

I.6.2- Toxicologie analytique en médecine vétérinaire

En médecine vétérinaire, les moyens et les objectifs sont légèrement différents. En effet, seule une minorité des analyses rentre en compte dans un contexte judiciaire. Contrairement à la toxicologie analytique humaine, les résultats ne sont pas systématiquement validés par deux méthodes, ceci pour des raisons économiques. La toxicologie analytique vétérinaire utilise les connaissances de la toxicologie analytique humaine bien plus développée et performante.

I.6.2.1- Applications analytiques de la toxicologie humaine à la toxicologie vétérinaire

Les méthodes chromatographiques (gazeuse, liquide haute performance ou sur couche mince) sont utilisées pour l'isolement et la quantification de substances variées dans différents types d'échantillon biologique. La méthode la plus répandue est la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée avec la spectrométrie de masse. Il s'agit de la méthode de choix pour la détection d'anticoagulant dans les tissus.

L'extraction peut se faire par partage liquide/liquide, par phase solide, par fluide supercritique ou encore par immunoaffinité. Cette dernière est la plus fréquente car très spécifique et sélective, associée à une extraction par phase solide.

La spectroscopie d'absorption atomique est la méthode de choix pour détecter les métaux dans les liquides biologiques, c'est une méthode précise et rapide grâce aux nouvelles procédures de minéralisation (système par digestion microondes) qui réduisent le temps analytique. De nouvelles techniques de détection des métaux sont développées telles que des techniques immunologiques (ELISA), ou des biocapteurs.

Les recherches en toxicologie ont permis de développer des analyses simples, rapides et abordables pour dépister rapidement un grand nombre d'échantillons. Les réactions colorimétriques ont été développées pour un résultat rapide en première intention au chevet du patient, comme par exemple la détection du paracétamol dans le sang humain qui pourrait être appliquée au chat (Russo, Restucci, Severino 2013).

1.6.2.2- Microscopie végétale

(Rech 2011 ; Bates 2012)

Très peu utilisée en médecine humaine, la microscopie végétale est relativement développée en médecine vétérinaire, que ce soit pour l'analyse toxicologique mais aussi plus souvent pour l'analyse nutritionnelle des aliments des animaux de production. L'identification des plantes toxiques ingérées passe par la microscopie végétale sur le contenu stomacal en première intention, cependant ces méthodes ont d'abord été établies pour une identification dans les fèces. L'identification botanique peut être encore possible dans le contenu stomacal non ou partiellement digéré mais elle peut s'avérer plus compliquée selon l'avancement de la digestion. L'utilisation de la microscopie végétale est complémentaire du dosage des toxiques. En effet certaines plantes partagent une molécule toxique commune. Cependant on s'oriente là vers un diagnostic parfois plus précis qui n'a que peu d'application concernant les carnivores domestiques. Cette technique s'appuie essentiellement sur l'absence de digestion des parois pecto-cellulosiques des cellules végétales. La microscopie végétale demande un matériel et des réactifs relativement accessibles aux praticiens. Cependant l'expérience du laborantin est un facteur essentiel dans la rapidité et la fiabilité de l'identification. Pour la lecture, au microscope optique au grossissement x100 ou x200, le microscopiste s'appuiera sur des atlas ou des livres de référence. Selon l'organe ingéré, le manipulateur va s'intéresser à l'épiderme inférieur des feuilles, l'anatomie des enveloppes des fruits et des graines, ou de l'écorce. Le diagnostic d'espèce est toujours difficile car il existe des nuances dans ces éléments anatomiques pour un même individu, mais aussi une grande ressemblance au sein de la même famille. De plus ces éléments ne concernent qu'un fragment d'un tissu d'un organe de la plante. Les conclusions microscopiques doivent donc être complétées et confrontées à une enquête sur le terrain.

2^{ème} partie – Etude toxicologique

II.1 - Epidémiologie des intoxications des carnivores domestiques

Les agents responsables des intoxications chez les carnivores domestiques sont très nombreux. En effet, à titre d'exemple, le Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires (C.N.I.T.V) a répertorié 446 produits responsables d'intoxications rien que pour l'espèce féline en 2008 et 2009 (Mailland 2011).

L'objectif de cette partie épidémiologique est donc de mettre en évidence les toxiques les plus fréquemment incriminés chez les carnivores domestiques afin de réduire le champ d'investigation aux toxiques les plus courants qui seront développés dans les monographies.

Les données utilisées sont issues d'études se basant sur le Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires (C.N.I.T.V) et le Laboratoire de diagnostic toxicologique vétérinaire de Lyon. Le C.N.I.T.V., basé à Lyon assure un service téléphonique de conseil concernant tout type de toxiques. Les appels reçus, qui s'élèvent à près de 12 000 pour l'année 2003, sont enregistrés pour un suivi épidémiologique (Barbier 2005). Le laboratoire de diagnostic toxicologique vétérinaire est un laboratoire spécialisé basé à Lyon VetAgro-Sup.

Les études utilisées s'intéressent aux appels reçus par les centres anti-poisons qui sont un excellent reflet de l'exposition aux toxiques. Les données basées sur les analyses toxicologiques effectuées reflètent l'exposition et les suspicions cliniques. Enfin les résultats positifs des analyses effectuées au laboratoire toxicologiques sont les données les plus pertinentes pour caractériser l'épidémiologie des intoxications, elles sont cependant moins accessibles.

II.1.1 - Espèces concernées

Plusieurs études montrent la surreprésentation du chien face à l'exposition aux toxiques. En effet, il représente 66% des appels reçus par le C.N.I.T.V. en 2002, suivi du chat avec 19%. En 2003 ces proportions sont de 70% pour le chien et 21% pour le chat. Les ruminants (5%) et les chevaux (2,8%) sont largement minoritaires (Berny et al. 2010 ; Barbier 2005).

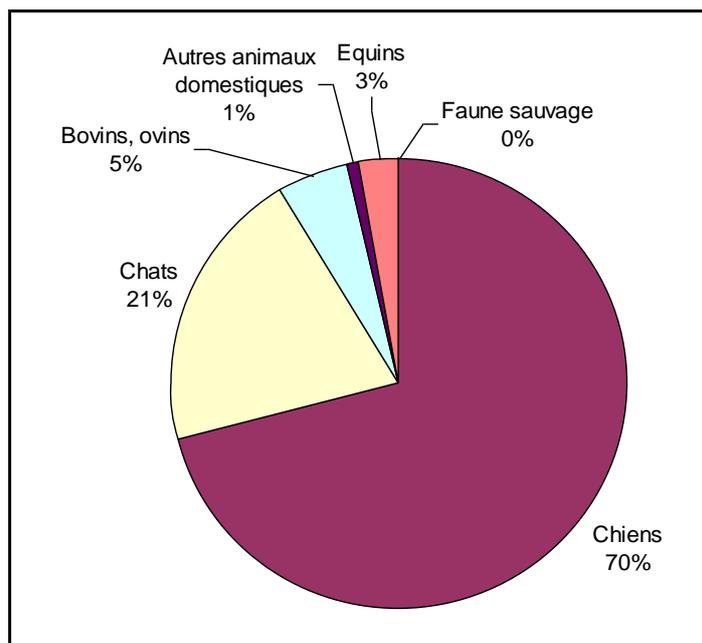


Figure 7- Répartition des espèces concernées par les appels au C.N.I.T.V. en 2003 (Barbier 2005).

Les données du laboratoire d'analyses toxicologiques de Lyon montrent que chiens et chats ne représentent plus que respectivement 35% et 12% des analyses effectuées en 2003 (Berny 2003) ; et 41% et 17% des analyses positives cette année-là. La faune sauvage, logiquement absente des appels au C.N.I.T.V. représente une grande part des analyses effectuées. En effet, le laboratoire de toxicologie travaille sous contrat avec l'Office National de la Chasse et de la Faune sauvage (ONCFS) pour la surveillance sanitaire de la faune sauvage.

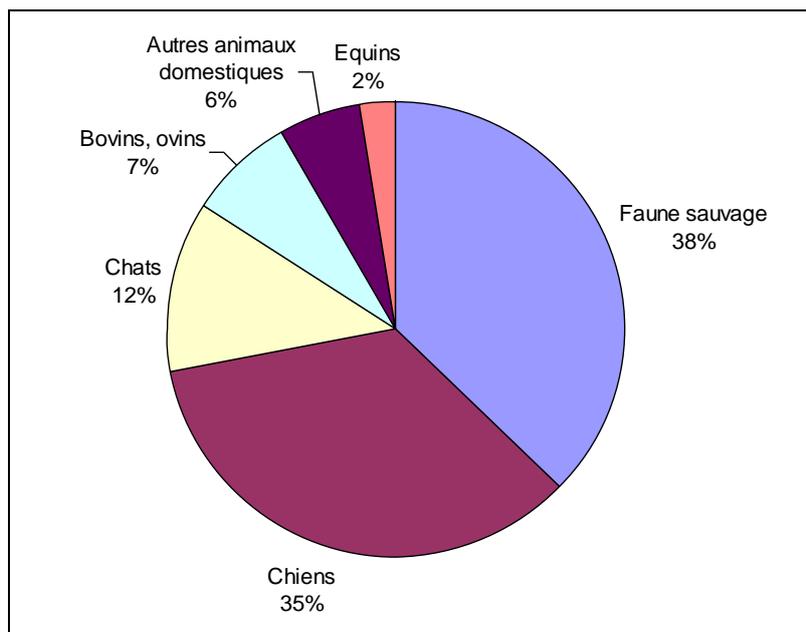


Figure 8 - Répartition des espèces concernées par les analyses réalisées au laboratoire de toxicologie de Lyon en 2003 (Berny 2003).

Le chien apparait donc comme l'espèce la plus exposée aux toxiques, loin devant les chats pourtant plus nombreux dans nos foyers. Cela peut s'expliquer par un comportement exploratoire et une tendance au pica plus importante chez les chiens (Barbier 2005). D'ailleurs, les jeunes chiens sont particulièrement à risque à cause d'un comportement exploratoire exacerbé. En effet, 45% des appels concernent des animaux de moins d'un an, 24% sont adultes et 2% ont plus de sept ans (Berny et al. 2010). Au contraire, les chats adultes sont les plus atteints, peut-être en raison de leur mode de vie (Barbier 2005). Le nombre d'appels plus élevé chez les chiens peut aussi s'expliquer par une plus grande promiscuité avec leur propriétaire contrairement aux chats. De ce fait, la réaction des propriétaires est souvent plus tardive pour les félins. Ainsi, chez le chat, 83,2% des analyses sont post-mortem contre 77,2% pour le chien (Jaquin 2001).

II.1.2- Modalités d'exposition

L'empoisonnement des animaux de compagnie peut résulter d'un acte de malveillance ou d'un accident (erreur ou négligence). Les actes de malveillance sont minoritaires (4%), bien derrière les accidents (70%), les intoxications environnementales (10%) ou l'automédication (3%). Chez le chat les intoxications dues à l'automédication sont relativement plus nombreuses (10%), en particulier à cause des antiparasitaires destinés aux chiens mais inadaptés aux chats. Ainsi, l'exposition des carnivores domestiques aux toxiques a très majoritairement lieu dans l'environnement immédiat de l'animal. En effet, les lieux d'exposition les plus fréquents sont la maison (60%) suivie du jardin (10%) et les promenades (3%) (Barbier 2005). La principale voie d'exposition est une ingestion orale (84%) suivie par l'exposition cutanée (9,1%) (Berny et al. 2010).

II.1.3- Toxiques concernés

Dégager les toxiques les plus fréquents n'est pas aisé à cause du grand nombre de toxiques en cause et du fait qu'aucun produit n'est responsable de la majorité absolue des intoxications. Globalement, les toxiques dits « fréquents » sont considérés comme ceux qui représentent plus d'1% des appels au C.N.I.T.V. Celui-ci a reçu 10 269 appels concernant les carnivores domestiques en 2003 (Barbier 2005).

De plus pour notre étude, il faut prendre en compte non seulement la fréquence d'exposition mais aussi la létalité pour avoir une idée des toxiques les plus fréquents lors de notre diagnostic post-mortem. Enfin, l'exposition n'est pas synonyme d'intoxication et parfois les analyses ne donnent pas de résultats. Ainsi, la part des analyses confirmées est de 59% chez les carnivores domestiques, légèrement supérieure aux analyses positives toutes espèces confondues (53%). Cette proportion d'analyses positives n'est pas significativement différente lorsque l'on ne considère que les analyses post-mortem (59,8%) (Jaquin 2001).

En Europe, les principales causes d'intoxications par grandes catégories chez les chiens sont les pesticides, les médicaments, les polluants, les plantes et l'alimentation. Chez les chats se sont les pesticides, les polluants, les médicaments, les plantes et les aliments (Caloni 2012). Les pesticides représentent donc la cause la plus fréquente d'appel, aussi bien chez le chien (39%) que chez le chat (33%) (Barbier 2005). Ils représentent en outre 992 cas des 3141 intoxications confirmées en 2003 en France pour les chiens et les chats. Les pesticides sont suivis par les médicaments (798 cas), les produits ménagers (720 cas) et les plantes (295 cas). (Berny et al. 2010 ; Barbier 2005).

Les données annuelles du C.N.I.T.V. montrent le grand nombre de toxiques possible auxquels les carnivores domestiques peuvent être exposés.

Tableau 4 - Répartition des toxiques en fonction du nombre d'appels (hors renseignement) concernant les carnivores domestiques au CNITV en 2003 (Barbier 2005).

	Nombre d'appels (N = 10 269)
Rodenticides anticoagulants	1 074
Inhibiteurs des cholinestérases	736
Hydrocarbures	436
Caustiques et détergents	409
Chloralose	284
Chocolat	210
Désinfectants	204
Pyréthroïdes	199
Ibuprofène	180
Paracétamol	173
Crimidine	138
Liliacées	137
Engrais	133
Métaldéhyde	125
Ethylène glycol	124
Bromazépam	112
Arsenic	87
Cannabis	76
Glyphosate	73
Aracées	69
Neem	64
Vipère	58
Vitamines	58
Barbituriques	57
Minéraux	54
Autres neuroleptiques	48
Crapaud	46
Euphorbiacées	43
Organochlorés	41
Aspirine	39
Cuivre	37
Chenilles	35
Laurier rose	34
Anti-inflammatoires stéroïdiens	33
Antihistaminique	32
Chlorates	30
Strychnine	26
Hypnotiques	24
Sulfate de fer	21
Scilioside	18
Huiles essentielles	16
Chlorure de sodium	13
Vitamine D3	10
Taxine	10

Ces données reflètent l'exposition mais ne prennent pas en compte la gravité des intoxications et donc la mortalité. Une étude basée sur les données du C.N.I.T.V entre 1991 et 1997 met en avant les principaux toxiques responsables de cas mortels chez le chien et le chat (Pineau 1999).

Tableau 5 - Nombres d'appels par toxiques avec mortalité des carnivores domestiques enregistrés au CNITV entre 1991 et 1997 (Pineau 1999).

	Nombre d'appel avec mortalité (N = 3 680)
Rodenticides anticoagulants	468
Inhibiteurs des cholinestérases	394
Strychnine	195
Chloralose	137
Métaldéhyde	96
Vitamine D3	65
Organochlorés	53
Chlorates	42
Sciliroside	35
Crimidine	33
Glyphosate	27
Ethylène glycol	26
Cuivre	24
Paracétamol	21
Euphorbiacées	19
Aracées	14
Arsenic	12
Hydrocarbures	12
Chlorure de sodium	11
Monoxyde de Carbone	10
Plomb	8
Neuroleptiques	7
Désinfectants	6
Laurier rose	6
Caustiques et détergents	5
Barbituriques	4
Ibuprofène	4
Aspirine	3
Engrais	2
Cyanure	1

On constate que la strychnine apparaît ici comme un toxique mortel fréquent alors qu'elle était relativement minoritaire dans l'étude précédente. Cela s'explique par la létalité élevée de ce toxique mais surtout par la date des études. La strychnine ayant été interdite à partir de 2000, il est logique de voir une diminution des appels en rapport avec ce toxique en 2003. De même, le monoxyde de carbone apparaît ici. D'une part il est fréquemment responsable de cas mortels mais il est aussi à relier avec la vétusté des installations de chauffage. Au contraire,

les carnivores domestiques sont souvent exposés aux caustiques (409 appels en 2003) mais ces toxiques ont un taux de létalité moins important ce qui explique le nombre d'appel suite à la mort de l'animal n'est que de 5 pour ces toxiques.

Le laboratoire d'analyses toxicologiques nous permet d'identifier les toxiques confirmés, ce qui semble plus pertinent. Cependant les analyses sont limitées aux suspicions cliniques et aux méthodes de recherche disponibles qui concernent les toxiques les plus fréquents.

Tableau 6 - Principaux toxiques chez les carnivores domestiques en fonction du nombre d'analyses positives réalisées au laboratoire d'analyses toxicologiques de Lyon en 2003 (Berny 2003).

	Nombres d'analyses positives (N = 464)
Inhibiteurs des cholinestérases	259
Chloralose	63
Strychnine	45
Rodenticides anticoagulants	35
Méthaldéhyde	25
Crimidine	10
Barbituriques	5
Organochlorés	4
Chlorates	3
Cuivre	2
Pyréthroïdes	2
Plomb	1
Arsenic	1

On constate que malgré son interdiction, la strychnine est encore une cause confirmée d'intoxication en 2003. Les rodenticides anticoagulants sont relativement moins importants, peut-être parce que l'épidémiologie et la forte suspicion clinique ne motivent pas une analyse toxicologique systématique. L'éthylène glycol n'apparaît pas dans les analyses réalisées en 2003, une seule analyse sur six a été positive cette année là et concernait un animal de la faune sauvage. Les caustiques et le monoxyde de carbone ne sont pas recherchés au laboratoire d'analyses toxicologiques de Lyon.

Une autre étude basée sur les données du Laboratoire d'analyses toxicologiques de Lyon entre 1994 et 1999 a croisé l'ensemble des analyses positives avec la mortalité, malheureusement les données restreintes aux carnivores domestiques ne sont pas disponibles et concernent donc l'ensemble des espèces animales.

Tableau 7 - Nombres d'analyses positives sur animaux morts (toutes espèces) réalisées au laboratoire d'analyses vétérinaire de Lyon entre 1994 et 1999 (Jaquin 2001).

	Nombres d'analyses positives sur des animaux morts (N = 9106)
Inhibiteurs des cholinestérasés	2981
Rodenticides anticoagulants	1307
Strychnine	596
Chloralose	297
Métaldéhyde	183
Organochlorés	117
Plomb	71
Cuivre	51
Crimidine	41
Ethylène glycol	29
Chlorates	26
Barbituriques	12
Cyanure	11
Arsenic	9
Vitamine D3	6
Pyréthrinoïdes	5
Scilliroside	2

Le choix des toxiques étudiés dans cette thèse se portera sur ceux dont les lésions sont suffisamment caractéristiques pour orienter le diagnostic à l'autopsie, que ces toxiques soient fréquents (rodenticides anticoagulants) ou non (monoxyde de carbone). Nous étudierons aussi certains toxiques plus fréquents et responsables d'expositions et d'intoxications mortelles chez le chien et le chat mais ne provoquant que des lésions non spécifiques en s'appuyant sur les cas de terrain recueillis auprès du laboratoire d'analyse toxicologique de VetAgro-Sup à Lyon, du C.A.P.A.E.-Ouest à Nantes et du C.A.P.A.T. à Toulouse.

Tableau 8 - Toxiques retenus dans l'étude. En gras les toxiques avec des lésions caractéristiques.

Pesticides
Rodenticides anticoagulants
Inhibiteurs des cholinestérases
Strychnine
Chloralose
Organochlorés
Polluants
Monoxyde de carbone
Irritants et caustiques
Ethylène glycol

Nous aborderons successivement les toxiques avec un tableau nécropsique spécifique (rodenticides anticoagulants, monoxyde de carbone, caustiques et éthylène glycol), puis ceux pour lesquels des lésions non spécifiques sont décrites classiquement. Six cas d'intoxications par les rodenticides anticoagulants puis 17 cas de terrain respectivement illustreront ces tableaux nécropsiques. La répartition des observations « terrain » reflète bien la répartition des analyses positives sur animaux morts décrite dans l'épidémiologie (*Tableau 7*) : 9 cas sur les inhibiteurs des cholinestérases, 6 cas sur les anticoagulants, 4 cas sur la strychnine, 3 cas sur le chloralose et 1 cas sur le lindane.

II.2- Lésions et diagnostic de certitude des intoxications chez les carnivores domestiques

II.2.1- Toxiques entraînant des lésions macroscopiques caractéristiques

II.2.1.1- Raticides anticoagulants

1) Présentation

Les raticides anticoagulants sont parmi les pesticides les plus employés dans la lutte contre les rongeurs nuisibles depuis leur découverte dans les années 1940. Ils sont présentés sous forme d'appâts ou moins fréquemment de poudre de contact (Roch 2008).

*** Classification**

Les raticides anticoagulants ont la particularité d'avoir une analogie structurale avec la vitamine K1, bien qu'appartenant à 3 familles chimiques différentes : les dérivés de l'hydroxy-4-coumarine, de l'indane-1,3-dione et de l'hydroxy-4-benzothiopyranone (Roch 2008).

D'un point de vue toxicologique, les molécules utilisées sont classées en 3 générations selon leur persistance hépatique mais aussi selon leur mode d'action : alors que les substances de 1^e et 2^e générations sont toxiques par accumulation et nécessitent une ingestion répétée pour avoir des répercussions toxiques, celles de 3^e génération ne nécessitent qu'une ingestion unique (Roch 2008).

Les molécules utilisées et commercialisées en France sont présentées dans le Tableau 9.

Tableau 9 - Molécules de raticides anticoagulants classées par famille et génération (Roch 2008).

		1^{ère} génération	2^{ème} génération	3^{ème} génération
<i>Persistance hépatique</i>		7 à 15 jours	15 à 21 jours	> 21 jours
<i>Familles chimiques</i>	Hydroxy-4-coumarine	Coumafène Coumachlore Coumatétralyl	Difénacoum Bromadiolone	Brodifacoum Flocoumafène
	Indane-1,3-dione	Diphacinone Chlorophacinone		
	Hydroxy-4-benzothiopyranone			Diféthialone

A l'heure actuelle, les rodenticides anticoagulants responsables d'intoxication les plus fréquents sont aussi les plus utilisés par les particuliers : difénacoum en tête suivi de la diféthialone, la bromadiolone et la chlorophacinone. Les produits réservés à un usage professionnel (brodifacoum, flocoumafène et coumafène) sont minoritaires (Barbier 2005).

** Propriétés physico-chimiques*

Les propriétés physicochimiques des raticides anticoagulants sont légèrement différentes d'un composé à l'autre ce qui permet leur identification en toxicologie analytique. D'ailleurs leur solubilité dans les différents solvants organiques étant relativement variable, il est particulièrement difficile d'extraire de façon concomitante tous les anticoagulants (Roch 2008). Ce sont des acides faibles lipophiles, faiblement solubles dans l'eau et très stables.

Tableau 10 - Quelques caractéristiques physicochimiques des différents anticoagulants (Roch 2008 ; PubChem 2015)

	Poids moléculaire (g/mol)	Spectre UV max (nm)	Solubilité															
			Acétone	Chloroforme	Ethanol	Acétate d'éthyl	Acide acétique	Diméthylformamide	Dioxane	Solutions alcalines	Dichlorométhane	Cyclohexane	Ether	Hexane	Benzène	Alcool	Eau	
Brodifacoum	523,4		+	+	+	+						+		-		-		-
Bromadiolone	527,4	260	+	+	+	+		+						-	-	-		-
Chlorophacinone	374,8	325	+	+	+	+	+					+		-	-	+	+	-
Coumachlore	342,8	305	+	+										-		-	+	-
Coumafène	308,4	308	+	+					+	+		-	-			-	-	-
Coumatétralyl	292,6	305	+						+	+	+		-			-	+	+
Difénacoum	444,5	310	+	+										-		-	-	-
Diféthialone	539,5	250	-	+	-			+							-		-	-
Diphacinone	340,4	285	+	+	+		+			+		+	+			-		-
Flocoumafène	542,6		+	+	+							+					+	-

** Pharmacocinétique :*

Par voie orale, l'absorption est très bonne par diffusion passive au niveau duodénal dans les 2 à 6 heures après l'ingestion (Roch 2008) selon la vitesse de vidange gastrique, le pH ou la présence d'aliments. Le taux plasmatique maximal est atteint environ 12 heures après l'ingestion (Valchev et al. 2008). Les anticoagulants sont transportés par le sang, fortement liés à l'albumine ce qui provoque leur libération progressive et une action prolongée. La fraction libre étant seule active, des interactions avec des médicaments liés aux protéines

plasmatiques peuvent provoquer une augmentation de la forme libre et donc une toxicité accrue. Leur distribution a lieu essentiellement vers le foie (90%) où ils sont majoritairement bio-transformés via des cytochromes P450 et accumulés. Leur rémanence hépatique est variable selon la génération : d'un point de vue thérapeutique, la rémanence est de 15 jours pour la première génération, 21 jours pour la seconde et plus de 30 jours pour la troisième. L'élimination totale est cependant plus longue. Ils sont distribués de façon minoritaire au pancréas et au rein. L'élimination biliaire sous forme glucurono-conjuguée n'est pas négligeable, à l'origine d'un cycle entéro-hépatique qui prolonge leur activité toxique. L'élimination définitive est rénale et fécale, en proportion différente selon la molécule (Roch 2008 ; Murphy 2002).

** Mécanisme d'action*

Les anticoagulants rodenticides agissent par inhibition non compétitive mais réversible de la vitamine K époxyde réductase, une enzyme indispensable pour le recyclage de la vitamine K par le foie. La vitamine K est un cofacteur essentiel pour l'activation des facteurs de coagulation. L'épuisement du stock de vitamine K provoque l'inhibition de l'activation hépatique de 4 facteurs de coagulation vitamine K dépendant regroupés sous le nom PPSB : prothrombine (facteur II), proconvertine (facteur VII), facteur de Stuart (facteur X) et facteur anti-hémophilique B (facteur IX). Ces facteurs interviennent dans l'hémostase secondaire. Les signes cliniques apparaissent quand l'organisme a épuisé son stock de facteur de coagulation, en général 48-72h après l'ingestion (Roch 2008 ; Palmer et al. 1999 ; Murphy 2002).

** Dose toxique*

Rappel : la DL50 (ou dose létale médiane) est un indicateur de la toxicité aiguë. Elle mesure la dose nécessaire pour causer la mort de 50% d'une population animale donnée pour une voie d'exposition donnée et elle s'exprime en mg par kg d'animal.

Pour les raticides anticoagulants, plus la génération est récente, plus la dose toxique médiane est faible.

Tableau 11 - Toxicité des anticoagulants pour le chien et le chat (DL50 en mg/kg par voie orale) (Roch 2008 ; Valchev et al. 2008 ; Murphy 2002).

		Chien	Chat
<i>1^{ère} génération</i>	<i>Chlorophacinone</i>	50 – 100 0,05/j x 10 jours	50 – 100
	<i>Coumachlore</i>	900	
	<i>Coumafène</i>	20-200 2,3-5/j x 5 jours	6 – 50 1-3/j x 5 jours
	<i>Coumatétralyl</i>	35	50
	<i>Diphacinone</i>	3-7,5 0,08-2/j x 3 jours	14,7
<i>2^{ème} génération</i>	<i>Bromadiolone</i>	10-25 0,15/j x 5 jours	25
	<i>Difénacoum</i>	25 – 50	100
<i>3^{ème} génération</i>	<i>Brodifacoum</i>	0,25 – 4	25
	<i>Diféthialone</i>	4	16
	<i>Flocoumafène</i>	0,46	0,075-0,25

** Exposition*

Les circonstances d'intoxication sont le plus souvent accidentelles : une méconnaissance du danger ou une absence de précaution lors de l'utilisation ou du stockage du produit conduisent à un risque d'exposition des animaux de compagnie. Les animaux, et en particulier les chiens, ingèrent les appâts avec le produit raticide qui est inodore mais avec un goût légèrement sucré (Valchev et al. 2008). Par exemple, un appât avec du brodifacoum (3^{ème} génération) concentré à 50ppm, intoxique un chien dès l'ingestion de 3,7g/kg (Roch 2008).

L'intoxication secondaire ou de relais (ingestion d'un rongeur intoxiqué) est peu probable chez les animaux de compagnie compte tenu des niveaux résiduels chez les rongeurs intoxiqués et des doses maximales tolérées chez les carnivores domestiques. En effet, un chien devrait ingérer au moins 500g de rats intoxiqués (soit 1 à 2 rats) par kg de poids vif pour atteindre la dose toxique de brodifacoum (Murphy 2002). L'intoxication secondaire concerne d'avantage les prédateurs de la faune sauvage qui ingèreraient quotidiennement et quasi-exclusivement des rongeurs intoxiqués dans des zones traitées (Roch 2008).

Les actes de malveillance sont globalement rares mais ces toxiques sont très accessibles et donc souvent employés à forte concentration sur les appâts appétents.

** Signes cliniques*

Le mécanisme d'action des anticoagulants implique des signes cliniques différés, le temps de l'épuisement des facteurs de coagulation. Les symptômes apparaissent 48 à 72h après l'ingestion. Le tableau clinique est celui d'un syndrome hémorragique de localisation variée, extériorisé ou non. Il s'accompagne souvent de symptômes généraux non pathognomoniques tels que l'abattement voire la léthargie, l'intolérance à l'effort ou l'anorexie. Tout saignement peut entrer dans le tableau clinique d'une intoxication aux anticoagulants. Il s'accompagne de muqueuses pâles avec un temps de remplissage capillaire augmenté, éventuellement une tachycardie, une polypnée et une hypothermie caractéristique d'un syndrome hypovolémique en fin d'évolution. Les saignements internes occultes peuvent avoir des répercussions cliniques très variées telles une dyspnée, des boiteries, des troubles cardiaques, une douleur abdominale ou une atteinte neurologique (Roch 2008 ; Murphy 2002).

2) Lésions macroscopiques et histologiques

Les intoxications aux anticoagulants provoquent un tableau lésionnel nécropsique très caractéristique (Roch 2008).

Des hémorragies généralisées, diffuses et multiples de localisations très variables sont observées. Ces hémorragies sont caractérisées par un sang incoagulable, d'ailleurs, le caillot intracardiaque est absent (Roch 2008). Les hémorragies prennent la forme d'hématomes dans le tissu sous cutané, d'hémopéritoine, d'hémothorax, d'hémopéricarde et d'hémorragie pulmonaire le plus souvent (Roch 2008 ; Murphy 2012). Les hémorragies externes, quand elles sont présentes, sont les plus évidentes : épistaxis, méléna, hématomèse, hématurie, saignements gingivaux. Des hémorragies médiastinales, sous arachnoïdiennes, cérébrales, thymiques, intra-vitréennes et intra-trachéales sont aussi possibles (Murphy 2012). Un cas d'hématome dans le parenchyme rénal avec hydronéphrose bilatérale a été décrit ainsi que des hémorragies au sein du parenchyme hépatique (Valchev et al. 2008 ; Duvall et al. 1989). Un cas d'hématome rénal sous capsulaire a également été décrit (Radi, Thompson 2004).



Figure 9- Hémorragies sous cutanées et musculaires lors d'une intoxication aux AVK chez un chien.
Photo : Laboratoire de toxicologie de VetAgro Sup.

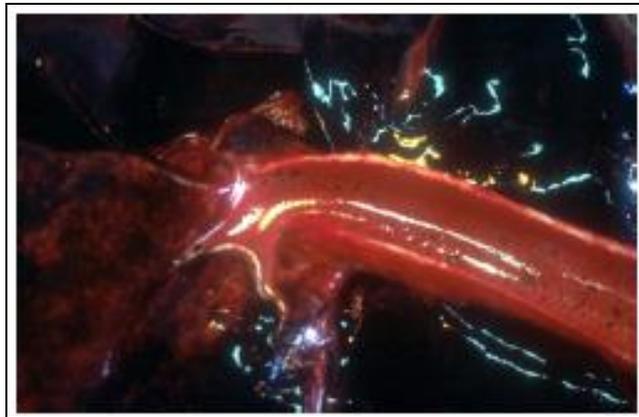


Figure 10 - Hémorragie pulmonaire lors d'une intoxication aux AVK chez un chien.
Photo : Laboratoire de toxicologie de VetAgro Sup.



Figure 11 - Hémopéritoine lors d'une intoxication aux AVK chez un chien.
Photo : Service d'anatomie pathologique de l'ENVT.

Les autres lésions nécropsiques sont moins caractéristiques : le cœur est décrit comme globuleux et flasque, le poumon est œdémateux et les muqueuses sont pâles ou parfois ictériques lorsque les lésions hépatiques sont importantes (Roch 2008). Le foie peut être congestionné ou en dégénérescence. Les anticoagulants rodenticides de 1^{ère} génération provoquent une calcification des gros vaisseaux (aorte, artère hépatique, artère mésentérique, artère rénale, artère fémoral), des valves du cœur (en particulier les valves sigmoïdes aortiques) et des bronches (Valchev et al. 2008). Cette calcification est expliquée par l'inhibition de la production d'acide gamma-carboxyglutamique (Gla) qui entre dans la composition de certaines protéines comme la MGP (matrix Gla protein). La MGP est une protéine vitamine K dépendante qui inhibe les processus de calcification. Elle est notamment sécrétée par les cellules musculaires lisses et les macrophages mais aussi par les ostéoblastes, les chondrocytes, les pneumocytes, les néphrocytes et les fibroblastes. Ces lésions de calcification sont plus fréquentes chez les animaux en croissance, en relation avec une phosphatémie élevée. La vitamine D potentialise également ces calcifications par les rodenticides de première génération (Price, Faus, Williamson 2000).

L'histologie hépatique révèle une nécrose centro-lobulaire et une micro-vacuolisation des hépatocytes (Roch 2008). Globalement, l'endothélium vasculaire est détérioré en particulier au niveau rénal (Dobre, Soare 2007), lésions endovasculaires qui seraient causées par la production de radicaux libres (Petterino, Bianciardi, Gastone 2004). Cependant, l'histologie est peu réalisée en pratique devant le tableau lésionnel macroscopique évocateur (Roch 2008). L'observation de sidérophages, en particulier au niveau pulmonaire, suggèrent un état d'hypocoagulabilité dans les jours précédant le décès (Palmer et al. 1999).

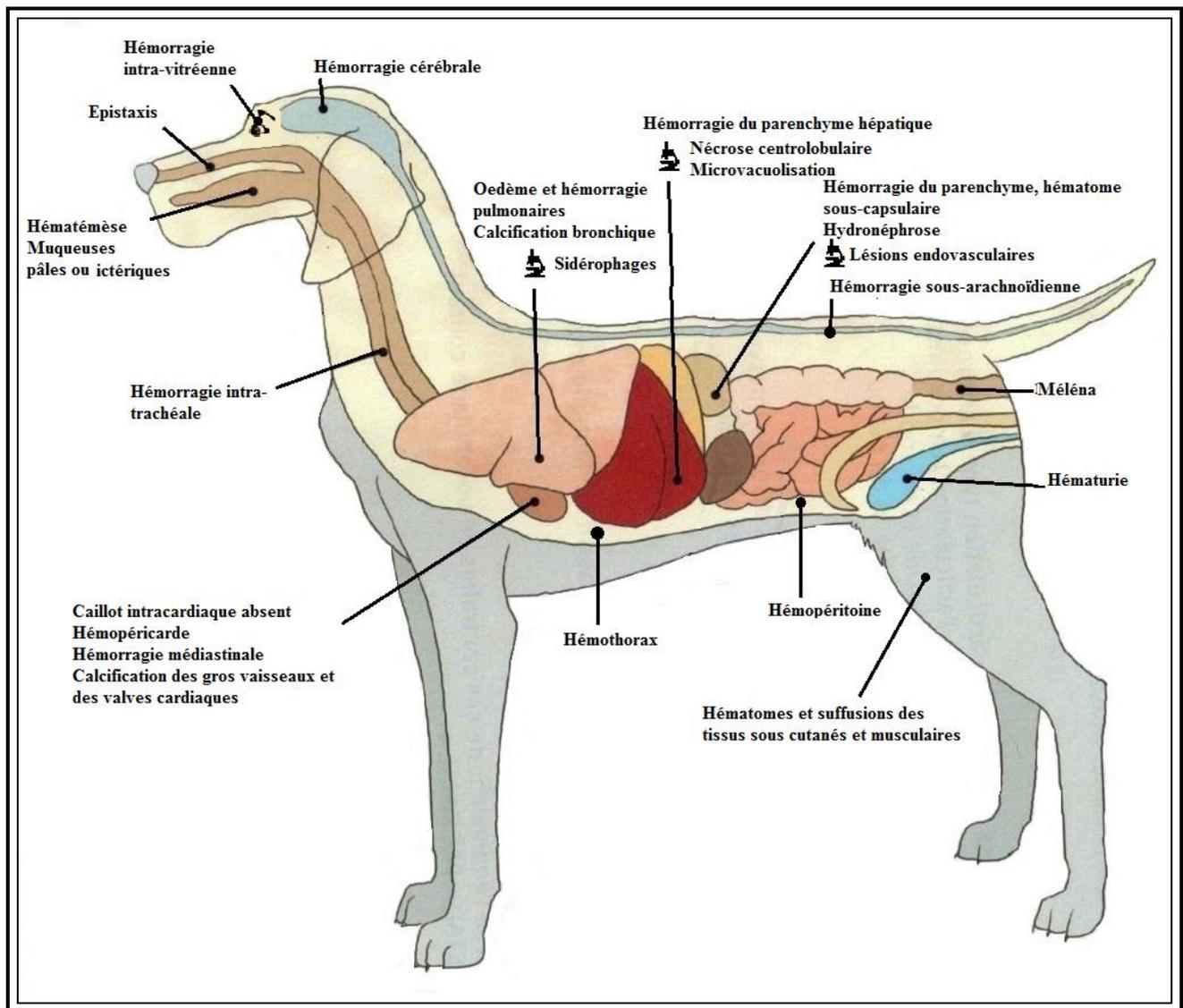


Figure 12 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par les AVK chez les carnivores domestiques.

Bien que caractéristique, le tableau lésionnel ne permet pas de conclure avec certitude à une intoxication aux anticoagulants. En effet, la démarche diagnostique passe par l'élimination d'autres causes de syndrome hémorragique (Roch 2008) en premier lieu et ensuite par un diagnostic de certitude au laboratoire d'analyses toxicologiques, en particulier pour l'identification de la molécule responsable.

3) Diagnostic de certitude : prélèvements et méthodes d'analyse

Le prélèvement de choix pour la recherche d'anticoagulants est le foie (50 à 100g) ou éventuellement un rein si le foie n'est pas disponible. En effet, une étude sur les rats a montré des concentrations de brodifacoum comparable dans les reins et le foie de rats intoxiqués (Palmer et al. 1999). Pour les analyses toxicologiques, l'échantillon est maintenu au froid mais non fixé. Cependant, une étude a montré que la concentration de brodifacoum détectée est seize fois supérieure sur un échantillon fixé au formol que sur un foie congelé. Cela peut s'expliquer par la déshydratation de l'échantillon au contact du formol, par l'arrêt des dégradations métaboliques et enfin par un relargage massif à partir des macromolécules sur lesquelles était fixé le toxique. L'analyse sur un échantillon fixé est donc possible mais les résultats doivent être interprétés avec précaution (Palmer et al. 1999). Le prélèvement du contenu gastrique a peu d'intérêt car le long délai d'action des anticoagulants provoque des signes bien après la vidange gastrique. De la même façon, le plasma n'est pas plus intéressant dans l'analyse nécropsique puisqu'il y a une diminution rapide de la concentration plasmatique au profit de la fixation hépatique (Roch 2008).

L'échantillon est d'abord purifié par une extraction liquide-liquide par des solvants organiques puis centrifugé. On utilise fréquemment l'acétone comme solvant organique dans les proportions suivantes : 10 à 20g d'échantillon pour 20mL d'acétone. Cette opération est répétée à deux reprises. Les protéines sont éliminées avec l'ajout de diéthyléther. La solution est à nouveau centrifugée puis évaporée et le résidu est solubilisé dans du méthanol. Cette extraction a une efficacité de 85 à 95% (Berny, Buronfosse, Lorgue 1995).

Historiquement, plusieurs techniques analytiques ont été développées et en premier lieu la chromatographie en phase gazeuse associée à la fluorométrie pour détecter le coumafène seul. Des méthodes de chromatographie en phase liquide ou sur couche mince ne permettaient qu'une recherche individuelle, puis la technique s'est améliorée pour permettre un screening simultané de toutes les molécules anticoagulantes (Murphy 2012).

Aujourd'hui, deux techniques sont utilisées couramment :

- La chromatographie en couches minces hautes performances (HPTLC) ou la chromatographie liquide haute performance (HPLC) associée à la spectroscopie UV ou la détection par fluorescence. Les limites de détection sont de 0,01µg/g dans le foie. La

spécificité est proche de 100% (Berny, Buronfosse, Lorgue 1995). Il s'agit de la technique employée au laboratoire de diagnostic toxicologique de VetAgro Sup à Lyon.

- La chromatographie en phase liquide associée à un spectromètre de masse. Cette dernière technique, plus sensible mais plus onéreuse et souvent réservée aux expertises judiciaires (Roch 2008).

Avec moins de moyen, une chromatographie sur couche mince avec indicateur de fluorescence peut suffire. Le solvant est un mélange de méthanol et d'acide orthophosphorique. La lecture se fait aux ultra-violet (longueur d'onde 254nm) par comparaison avec une migration témoin de la molécule recherchée.

La bonne sensibilité des techniques analytiques ne doivent pas faire oublier que des faux négatifs sont possibles si le prélèvement n'est pas approprié ou si le délai d'autopsie et d'acheminement des prélèvements est trop long (Roch 2008). De plus ces techniques mesurent le toxique libre, des interférences sont donc possibles (notamment sur un échantillon fixé) (Palmer et al. 1999).

4) Illustrations par des cas de terrain

Six cas d'intoxications avérées aux anticoagulants et sur lesquels une autopsie a été pratiquée ont été traités par les centres anti-poisons vétérinaires français entre 2008 et 2014. Bien évidemment, ces données sont biaisées par le fait que les praticiens ne réalisent pas toujours une autopsie, d'autant plus que les signes cliniques d'une intoxication aux anticoagulants sont déjà très indicatifs. Ces cas ne concernent que des chiens adultes de grande race.

Parmi les cas observés, les molécules en cause sont la chlorophacinone, la bromadiolone et le difénacoum. Les analyses ont toutes été effectuées sur des échantillons de foie, par HPTLC au laboratoire toxicologique de Lyon et par TLC à Toulouse. Les concentrations retrouvées au niveau du foie se situaient entre 0.09 et 4.96 ppm.

Les lésions les plus fréquemment observées sont la pâleur des muqueuses (5/6), un épanchement hémorragique (6/6), et des hémorragies ou suffusions dans divers organes (foie, rein, muqueuse vésicale, intestinale, poumons) ce qui est cohérent avec les lésions rapportées par l'étude bibliographique.

Tableau 12 - Cas de terrain d'intoxications aux rodenticides anticoagulants confirmés par une analyse toxicologique et autopsiés

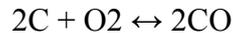
Commémoratifs	Anamnèse	Autopsie	Echantillon	Analyse	Résultats
Chien Cane corso 8 ans Femelle	Trouvé mort	- muqueuses pâles, - hémopéritoine, - nodules blanchâtres spléniques et hépatiques, - zones blanchâtres fibrotiques sur les reins et zone hémorragique sur le rein gauche, - stries hémorragiques sur la muqueuse gastrique, - poumons congestifs, - hypertrophie de la paroi ventriculaire gauche.	Foie	HPTLC	Bromadiolone 0,09µg/g
Chien Golden retriever 7 ans Mâle	Abattement, cyanose, dyspnée, mort	- muqueuses pâles, - hémopéritoine, - hémopéricarde, - suffusions de la muqueuse intestinale, - contenu intestinal hémorragique - poumons hémorragiques, - hypertrophie concentrique du ventricule gauche	Foie	HPTLC	Bromadiolone 1,03µg/g
Chien Husky 2 ans Femelle	Syncope, vomissement et diarrhée hémorragiques, mort à +12h.	- muqueuses pâles, - hémopéritoine, - foie friable et hétérogène, - petites zones blanchâtres fibreuses sur les reins, - hémoglobinurie, - contenu digestif hémorragique, - poumons hémorragiques.	Foie	HPTLC	Difénacoum 0,21µg/g
Chien Bouvier bernois 6 ans Femelle	Trouvé mort. D'autres animaux sont morts dans les mois précédents avec des signes d'hémorragie.	- muqueuses pâles et cyanosées, - jetage séro-hémorragique, - hémopéritoine modéré, - hémothorax important, - hémopéricarde, - foie hétérogène, pas de coagulation, - infiltrations hémorragiques de la muqueuse vésicale, - poumons hémorragiques.	Foie	HPTLC	Chlorophacinone 1,01µg/g
Chien Berger Allemand 3 ans Mâle	Asthénie 24h	- muqueuses pâles, - hémopéritoine, - splénocontraction - hémorragie pyélique - infiltration hémorragique de la paroi vésicale, hématurie, - hémorragies mésentériques.	Foie	HPTLC	Chlorophacinone 4,96µg/g
Chien Setter anglais Age inconnu Femelle	NC	- hémopéritoine, - pétéchies et suffusions sur le diaphragme, le thymus et le foie - sang non coagulé - splénite réactionnelle marquée	Foie	TLC	Chlorophacinone

Légende : HPTLC = High Performance Thin Layer Chromatography ; TLC = Thin Layer Chromatography ; NC = non communiqué

II.2.1.2- Monoxyde de Carbone

1) Présentation

Le monoxyde de carbone (CO) est un gaz incolore et inodore formé lors de la combustion incomplète de produits carbonés.



Les circonstances d'intoxication aiguë sont le plus souvent accidentelles, suite à une défaillance technique d'un système de combustion au charbon ou suite à un incendie (Viala 1998). Il s'agit encore aujourd'hui d'une source d'intoxication non négligeable chez les humains et leurs animaux de compagnie. En effet, chaque année plus de 3000 personnes sont victimes d'intoxications au monoxyde de carbone en France dont plus d'une centaine de morts. Une étude anglo-saxonne ne portant que sur les intoxications non intentionnelles et non reliées à un incendie a dénombré près de 31 animaux de compagnie atteints sur 25 ans au Royaume-Uni (Fisher et al. 2013).

**** Propriétés physico-chimiques***

Incolore, inodore et insipide, il n'est généralement pas détecté. Plus léger que l'air (densité = 0,97), le monoxyde de carbone a une très bonne diffusibilité dans l'air ambiant.

En revanche, il est pratiquement insoluble dans l'eau et difficilement liquéfiable. Son fort potentiel réducteur et son aptitude à absorber les rayonnements infrarouges sont mis à profit pour son dosage (Viala 1998).

**** Pharmacocinétique***

Il est rapidement absorbé par voie respiratoire et se lie fortement à l'hémoglobine principalement mais aussi à la myoglobine. Il est éliminé principalement par voie respiratoire sous forme de dioxyde de carbone (Viala 1998).

**** Mécanisme d'action***

Le monoxyde de carbone empêche le transport de l'oxygène par fixation compétitive sur l'hémoglobine, ce qui provoque une hypoxie, en particulier de l'encéphale et du myocarde. L'affinité de l'hémoglobine pour le monoxyde de carbone est 200 à 300 fois plus forte que pour l'oxygène. La carboxyhémoglobine ainsi produite est très stable mais cette fixation est

potentiellement réversible, c'est pourquoi le traitement repose en premier lieu sur l'oxygénothérapie (Viala 1998 ; Roderique et al. 2015).

De plus, le monoxyde de carbone provoque un remaniement conformationnel de l'hémoglobine qui lie plus fortement l'oxygène. Il en résulte un déplacement de la courbe de dissociation Hémoglobine-O₂ et donc une moins bonne délivrance de l'oxygène aux tissus car la pression partielle en oxygène des tissus doit s'abaisser plus fortement pour que l'hémoglobine libère son oxygène (Kent, Creevy, Delahunta 2010).

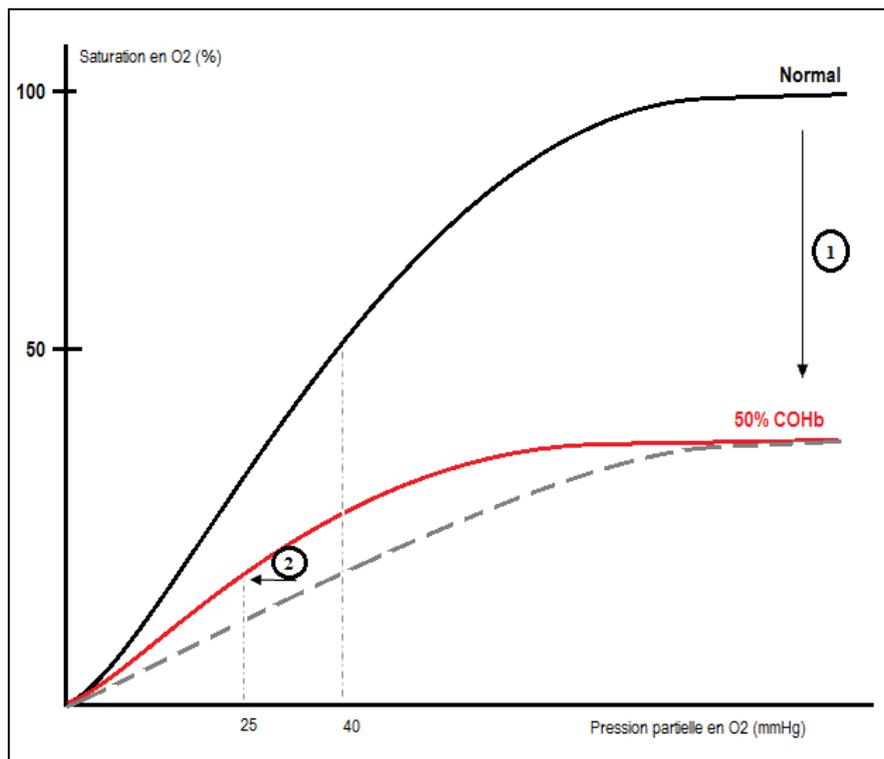


Figure 13- Modification de la courbe de dissociation de l'hémoglobine lors d'intoxication au monoxyde de carbone. (D'après Kent, Creevy, Delahunta 2010)

Par sa fixation compétitive sur l'hémoglobine, le monoxyde de carbone diminue la saturation en oxygène (1). De plus, l'hémoglobine remaniée lie plus fortement l'oxygène ce qui résulte en un déplacement de la courbe de dissociation hémoglobine-O₂ (2).

Le monoxyde de carbone provoque en plus un stress oxydatif par libération de radicaux libres et l'apoptose des neurones. Il se fixe aussi sur les autres protéines hémiques en particulier la myoglobine et certaines enzymes comme les cytochromes P450 et aa3 (Viala 1998). De plus, le monoxyde de carbone a une action directe sur le tonus vasculaire via la production et la libération d'oxyde nitrique à l'origine d'hypotension qui aggrave l'anoxie. Enfin, en agissant sur les canaux ioniques des neurones et du cœur, le monoxyde de carbone augmente l'excitabilité neuronale, diminue le rythme cardiaque et la contractilité du myocarde et crée des blocs atrio-ventriculaires (Roderique et al. 2015).

** Dose toxique*

Les animaux sont d'autant plus sensibles au monoxyde de carbone que leur rythme respiratoire est rapide, d'où une grande sensibilité des oiseaux et des petits rongeurs.

Une exposition de quelques minutes à une fraction de monoxyde de carbone de 0,1% dans l'air conduit déjà à une intoxication potentiellement grave chez l'homme.

La concentration létale 50 est de 2,07 ppm/4h chez le rat, 2,80 ppm/4h chez la souris et 6,55 ppm/4h chez le cobaye. Chez le chien adulte, la concentration létale la plus faible rapportée est de 4000ppm/46min alors qu'elle est de 4000ppm/30min chez l'homme.

La sensibilité des individus au monoxyde de carbone a de nombreux facteurs de variation tels que l'âge, la pression partielle en O₂ de l'air ambiant (qui diminue en altitude notamment) ou encore la préexistence d'une maladie cardiovasculaire ou cérébrale (Viala 1998).

** Signes cliniques*

Suite à une exposition aiguë, l'animal est inconscient. Les muqueuses, la peau et la pulpe des griffes non pigmentées peuvent être de couleur rouge cerise surtout dans les cas graves ou cyanosées. Parfois des phases d'agitation et de vocalisations peuvent avoir lieu en début d'évolution. Puis des signes d'hypoxie des différents organes peuvent apparaître, en particulier concernant le système nerveux central. L'atteinte neurologique se traduit par des faiblesses, une perte de conscience ou des convulsions. Les signes cardiovasculaires sont ceux d'une intolérance à l'effort, dyspnée, syncope, arythmies cardiaques. On peut également observer une hémorragie rétinienne, une rhabdomyolyse, ou encore des vomissements (Cope 2012).

2) Lésions

La principale observation nécropsique est la coloration rouge cerise relativement persistante du sang, des muscles, des tissus sous cutanés, et des viscères (Cope 2012). Lorsque l'intoxication est liée à un incendie, on peut observer des particules noirâtres déposées sur les anneaux cartilagineux de la trachée conséquence de l'inhalation de fumée (Cf. Figure 14).



Figure 14 – Dépôt de fumée le long de la trachée d'un chien décédé dans un incendie. On remarque un gradient dans le dépôt des particules de fumée le long de la trachée depuis le larynx à gauche jusqu'au poumon à droite. Photo : Service d'anatomie pathologique de l'ENVT.

A l'histologie de l'encéphale, on peut observer des lésions d'ischémie cérébrale, de leucoencéphalomalacie focale (Cope 2012). La nécrose neuronale touche particulièrement le *pallidum*, la *substantia nigra*, le cervelet et l'hippocampe. Lors de toxicité retardée, une myélopathie affectant la substance blanche profonde des hémisphères cérébraux se met en place avec démyélinisation et nécrose. Une vasodilatation et parfois des hémorragies peuvent aussi être observées dans la substance blanche.

Des lésions histologiques pulmonaires indépendantes de la dose de monoxyde de carbone reçue ont été mises en évidence chez des rats ce qui suggère un effet toxique direct : œdème, épaissement interstitiel et infiltration polynucléaire focale (Penney 1990).

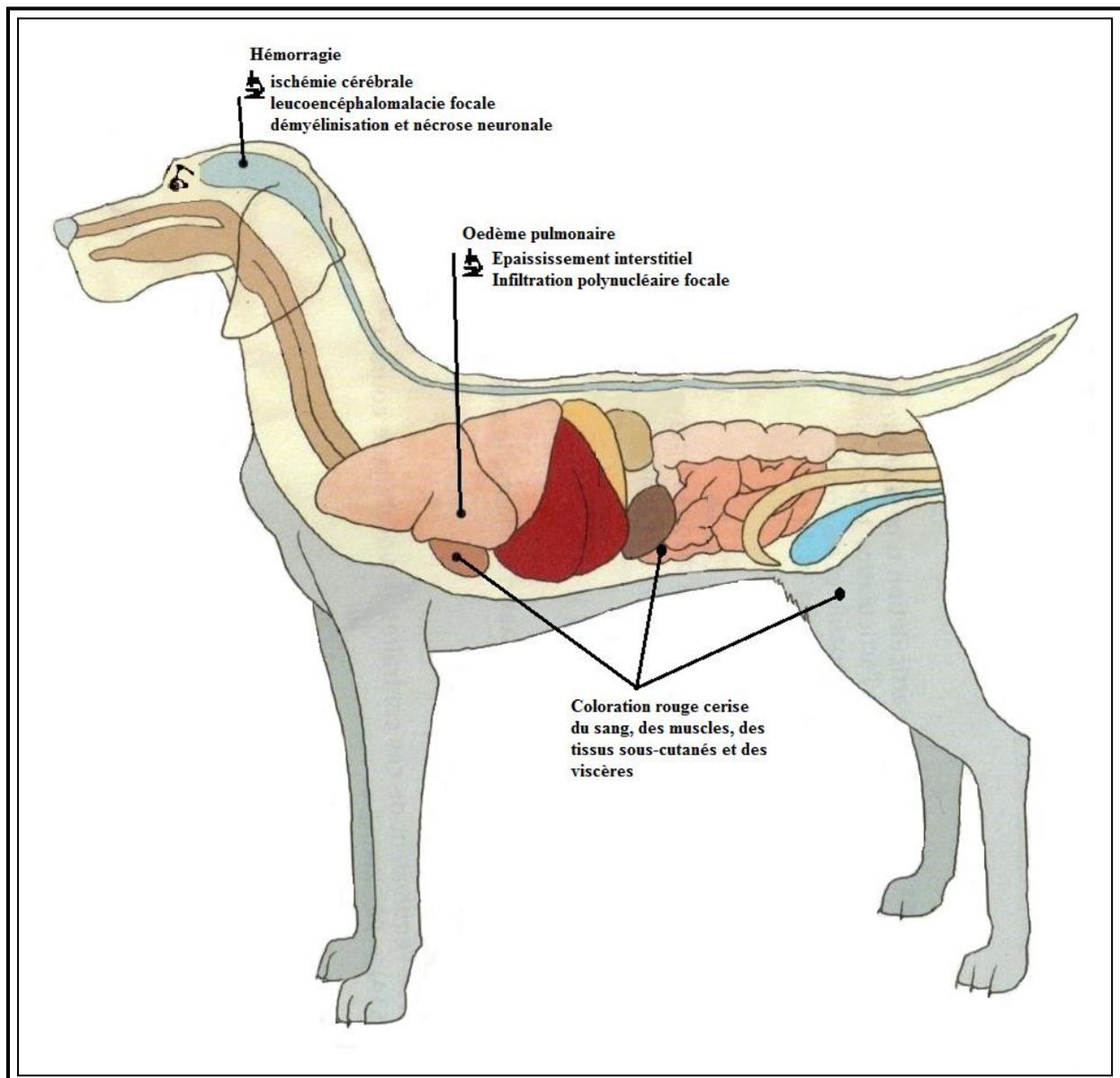


Figure 15 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par le monoxyde de carbone chez les carnivores domestiques.

3) Diagnostic de certitude

Le prélèvement de choix est le sang cardiaque ou périphérique. Un échantillon de 5mL est prélevé sur tube hépariné ou EDTA avec un conservateur antimicrobien (fluorure de sodium). Les tissus spléniques, hépatiques ou musculaires peuvent être utilisés en 2^e intention. Les prélèvements doivent être acheminés rapidement, de préférence dans des contenants étanches et sous couvert du froid. En effet, la diminution en carboxyhémoglobine est marquée et rapide (Société Française de Toxicologie Analytique 2006).

Deux types de techniques se distinguent : on peut rechercher soit la proportion de carboxyhémoglobine dans le sang, soit doser le monoxyde de carbone après dénaturation de la carboxyhémoglobine (Boumba, Vougiouklakis 2005 ; Viala 1998).

* Les méthodes colorimétriques sont historiquement les premières mises en place. Elles sont cependant encore utilisées parfois pour des dosages semi-quantitatifs. Elles utilisent principalement le pouvoir réducteur du monoxyde de carbone.

* La spectrophotométrie permet de déterminer le pourcentage d'hémoglobine saturée par le monoxyde de carbone en comparant le spectre de notre échantillon avec ceux de l'oxyhémoglobine et de la carboxyhémoglobine. Deux bandes d'absorption dans le spectre chromatique de la lumière naturelle caractérisent à la fois l'oxyhémoglobine et la carboxyhémoglobine. La différence se fait par l'action de l'hydrosulfite de sodium qui réduit l'oxyhémoglobine en hémoglobine mais ne modifie pas la carboxyhémoglobine. L'hémoglobine est caractérisée par une seule large bande d'absorption appelée *bande de Stokes*. La spectroscopie est suffisamment sensible pour détecter des concentrations inférieures à celles considérées comme dangereuses mais sa précision est limitée.

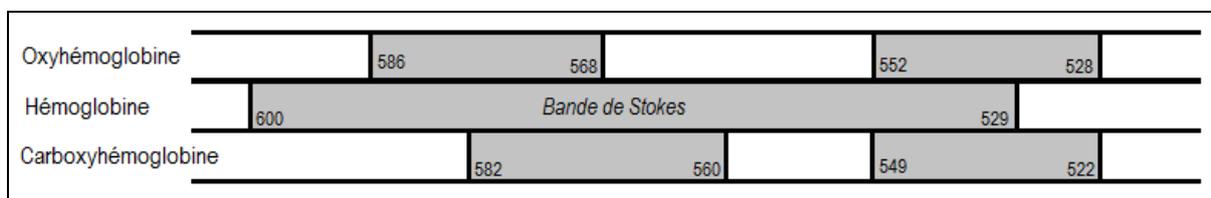


Figure 16 - Position des bandes d'absorption (en nm) en examen spectroscopique. D'après Viala 1998.

* La chromatographie en phase gazeuse associée à la spectrométrie de masse est aujourd'hui la méthode de référence pour le dosage du monoxyde de carbone en particulier sur le sang car elle n'est pas affectée par la qualité de l'échantillon mais elle peut aussi s'utiliser sur les tissus.

L'échantillon est mélangé à une solution qui lyse les érythrocytes et qui libère ainsi le monoxyde de carbone de l'hémoglobine. La quantité de CO libérée est mesurée directement. Afin d'obtenir le pourcentage de carboxyhémoglobine, le taux total d'hémoglobine est également mesuré. Cette méthode est précise et n'est pas interférée par la présence de contaminants, par la putréfaction ou par les autres formes d'hémoglobine.

L'interprétation des résultats doit prendre en compte l'oxycarbonémie physiologique issue du catabolisme de l'hémoglobine. A partir de 1mL/CO/100mL de sang soit 5% de carboxyhémoglobine, l'imprégnation est indiscutable. Cependant, une intoxication aigüe ne peut être suspectée qu'à partir de 5mL/CO/100mL soit 20-25% de carboxyhémoglobine. La mort n'est observée qu'à partir de 50% pour des individus avec des facteurs aggravants.

II.2.1.3- Irritants, détergents et caustiques

1) Présentation

Le risque de contact des animaux domestiques avec les produits d'entretien est réel, en particulier lors de défaut de stockage des produits. Les produits sont souvent composés de plusieurs principes actifs (Douaud 2008). Les caustiques ont une forte toxicité et provoquent une nécrose quasi immédiate par contact.

Tableau 13 - Les différents irritants et caustiques (Dorigny 2006).

Famille	Principaux représentants
Bases fortes	- Soude caustique - Potasse - Ammoniaque
Acides forts	- Acide chlorhydrique - Acide sulfurique
Acides faibles	- Acide phosphorique - Acide fluorhydrique - Acide oxalique
Oxydants	- Hypochlorite de sodium (eau de Javel) - Peroxydes (eau oxygénée)
Sels	Phosphates, silicates, carbamates, borates, sulfates de sodium
Aldéhydes	formaldéhyde (formol)...
Détergents cationiques	Ammoniums quaternaires
Détergents anioniques	Lessives
Autres	époxydes, phénols, chaux...

Ces produits ont des utilisations très variées dans l'entretien de la maison ou des industries : décapants ou détartrants de multiples surfaces, déboucheurs de canalisation, produits anti-rouille, décolorants, produits de lave vaisselle, détergents, etc. Les trois produits les plus souvent utilisés au foyer et donc impliqués dans les intoxications domestiques sont l'eau de javel, la soude caustique et les ammoniums quaternaires (Douaud 2008).

▪ L'eau de Javel et autres dérivés chlorés

L'hypochlorite de sodium (ou eau de Javel) est utilisé comme nettoyant, désinfectant et détartrant. Les autres dérivés chlorés sont l'hypochlorite de calcium, l'hypochlorite de lithium ou les isocyanurates chlorés. Les principes actifs de ces composés sont communs et fonction du pH : l'acide hypochloreux HClO devient de l'hypochlorite ClO^- en milieu basique, ou du dichlore Cl_2 en milieu acide. Ils ont un fort pouvoir oxydant et un pH plutôt basique. Leurs formulations sont fonction de leur concentration : 2,6% pour les solutions prêtes à l'emploi ;

9,6% pour les solutions concentrées et 13% pour les solutions utilisées dans l'industrie. Les circonstances d'intoxication sont le plus souvent dues à un mauvais stockage des produits d'entretien, à l'abreuvement de l'animal avec l'eau de nettoyage, ou le contact avec les produits d'entretien de piscine. Ces toxiques sont irritants sous forme diluée et caustiques sous forme concentrée. Leur toxicité est d'abord liée à la concentration et au pH plutôt qu'à la dose. En pratique la dose létale est rarement atteinte car l'ingestion est très douloureuse. La formation d'acide hypochloreux dans l'estomac crée des brûlures par oxydation des protéines. L'acide chlorhydrique et le chlorure de sodium formés pénètrent à travers la barrière intestinale et provoquent une acidose métabolique, une hypernatrémie et une hyperchlorémie (Douaud 2008).

- **Les ammoniums quaternaires**

Les ammoniums quaternaires sont des détergents cationiques utilisés pour leurs activités biocides et tensioactives. Ils dénaturent les protéines en se liant de manière irréversible aux phospholipides et protéines de la membrane. Ils ont également une action curarisante et provoquent une broncho-constriction. Leur pouvoir irritant dépend de leur concentration : dès 0,1% ils sont irritants pour les muqueuses, au-delà de 10% ce sont des caustiques cutanés. Les agents tensioactifs utilisés pour les lessives peuvent être à l'origine, par leur fort pouvoir moussant, d'atteinte de l'appareil respiratoire superficiel et profond (pneumopathie par fausse déglutition) (Douaud 2008).

- **Les caustiques basiques**

La soude caustique (ou hydroxyde de sodium) est une base forte et un caustique majeur utilisée comme désinfectant, décapant ou dans les lessives.

Son action est locale par contact : en se combinant avec les protéines et les graisses elle provoque une nécrose de liquéfaction. Par son hygroscopie importante, elle absorbe l'eau des tissus et peut causer des lésions profondes (Douaud 2008 ; Contini 2013).

* *Dose toxique*

L'exposition aux toxiques caustiques et irritants peut se faire par voie cutanée, par ingestion ou par inhalation (Douaud 2008).

Tableau 14 - Dose létale médiane chez le rat pour les principaux caustiques selon la voie d'exposition (DOUAUD 2008).

	DL50 orale rat	DL50 cutanée rat	CL50 inhalation rat
Ammonium quaternaire	240 mg/kg	1 560 mg/kg	<i>Sans objet</i>
Eau de Javel	8 910 mg/kg	> 3 000 mg/kg	> 10,5 mg/l/h
Formaldéhyde	800 mg/kg	<i>Non documentée</i>	578mg/m ³ /4h
Peroxyde d'hydrogène	376 à 4 050 mg/kg	630 à 7 500 mg/kg	2 000 mg/m ³ /4h

N.B. : La dose létale est exprimée en mg/kg qui correspond à une quantité de chlore actif. Celle-ci est calculée à partir du degré chlorométrique qui correspond au volume de dichlore gazeux susceptible d'être dégagé par un litre de solution sous l'action d'un acide à température 0°C et à pression atmosphérique. Aujourd'hui la concentration de l'eau de Javel est exprimée en pourcentage massique de chlore actif qui correspond à l'unité internationale.

** Signes cliniques*

La présentation clinique des intoxications aux caustiques et détergents regroupe des signes digestifs voire cutanés et oculaires, et parfois des signes neurologiques. L'ingestion de produits ménagers peut entraîner une inflammation buccale (glossite, stomatite, ulcères), ptyalisme, vomissement voire hématemèse, diarrhée, douleur abdominale, dysphagie ou anorexie. Les lésions œsophagiennes deviennent le siège d'une infection bactérienne dans les jours suivant l'ingestion. Elles provoquent également une striction œsophagienne, une perte de motilité et des reflux gastro-œsophagiens qui entretiennent l'œsophagite (Contini 2013). Des signes oculaires tels un épiphora, une conjonctivite, des ulcérations et opacification de la cornée peuvent être observés en cas de projections oculaires. En cas de contact cutané, les lésions sont un érythème ou un œdème local, une décoloration du poil ou des brûlures chimiques. Les produits moussants peuvent provoquer toux et dyspnée. Les détergents cationiques provoquent des signes neuromusculaires tels que des convulsions cloniques ou une dépression respiratoire centrale (Baudry 2001). Les produits acides peuvent être associés à des complications systémiques telles qu'une insuffisance rénale aigüe, une insuffisance hépatique, une CIVD ou une hémolyse.

2) *Lésions*

Les lésions histologiques provoquées par les désinfectants sont communes et non spécifiques.

Par contact cutané, ils provoquent des lésions non spécifiques de brûlure chimique caractérisées par une dermatite exsudative (érythème, œdème, alopecie) pouvant aller jusqu'à l'ulcère et la nécrose. Les brûlures chimiques sont liées à deux facteurs : la réaction chimique exothermique entre le produit et la peau, et l'action propre du caustique par destruction des protéines. Les composés basiques provoquent une nécrose de désintégration ou liquéfaction et des brûlures plutôt graves de 3^e degré alors que les composés acides provoquent plutôt une nécrose de coagulation (destruction et précipitation des protéines et du collagène) et des brûlures du 1^e et 2^e degré (Le Nepvou 2004; Contini 2013). De plus, les caustiques, en particulier basiques, conduisent à des thromboses à l'origine d'ischémie sur des tissus déjà endommagés (Contini 2013 ; Osman et al. 2008).

Les projections oculaires provoquent aussi ulcérations et opacifications cornéennes (Douaud 2008).

Lors d'ingestion, les brûlures sont localisées aux muqueuses de contact : stomatite, gingivite, œsophagite et gastrite. Des pétéchies et érosions de la muqueuse œsophagienne et gastrique peuvent être observées jusqu'à l'ulcération. Lorsque l'ingestion est très douloureuse ou pour les toxiques sous forme solide, les lésions sont souvent limitées à la sphère haute. Parfois lors de toxiques liquides, les lésions les plus importantes sont œsophagiennes avec peu de lésions buccales. Dans les formes les plus graves, une perforation œsophagienne ou gastrique peut être observée avec des lésions de péritonite. Ces perforations ont souvent lieu dans les jours qui suivent l'ingestion. Enfin des hémorragies digestives peuvent compléter le tableau lésionnel. Un œdème du pharynx et du larynx est également possible (Douaud 2008).

Lors d'inhalation, on observe des ulcérations des narines et des voies respiratoires supérieures, éventuellement un œdème pulmonaire (Douaud 2008).

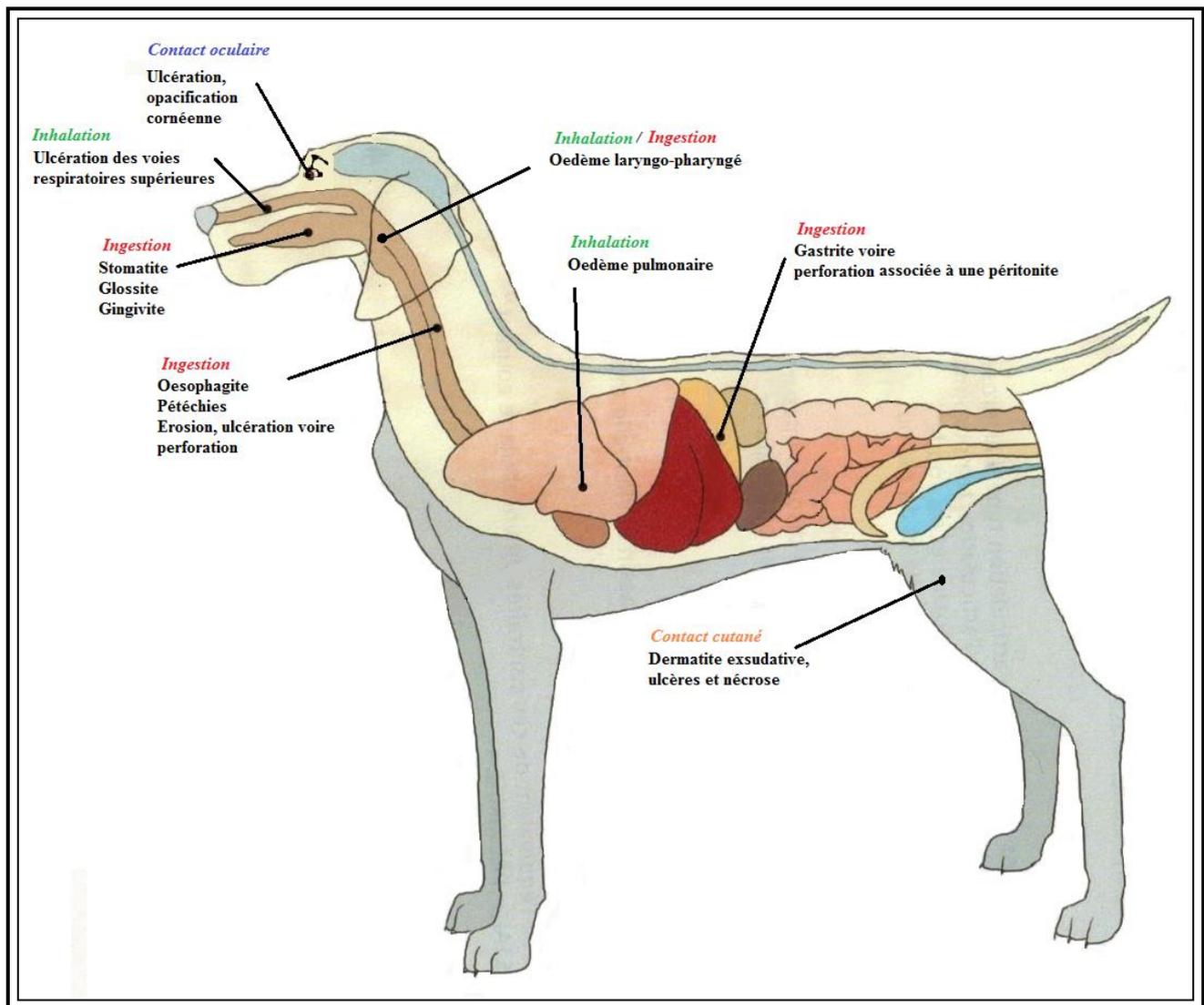


Figure 17 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par les caustiques chez les carnivores domestiques.

3) Diagnostic de certitude

Les intoxications fatales par les caustiques sont rares en médecine vétérinaire. Cependant le tableau lésionnel est assez évocateur et souvent bien orienté par l'anamnèse. En pratique l'analyse toxicologique est donc peu réalisée.

Le prélèvement de choix est avant tout le contenu gastrique. Une mesure préalable du pH peut être déjà indicative : le pH est très basique suite à l'ingestion de soude caustique notamment. Le dosage des chlorures sur le contenu gastrique est également possible pour objectiver une intoxication à l'eau de Javel : on utilise le titrage potentiométrique par le nitrate d'argent ou la colorimétrie au thiocyanate. Les chlorures peuvent aussi être détectés par chromatographie gazeuse (Pepin 2006).

II.2.2- Toxiques entraînant des lésions histologiques caractéristiques

II.2.2.1- Ethylène glycol

1) Présentation

L'éthylène glycol est utilisé principalement dans les garages comme antigel dans le liquide de refroidissement des automobiles ou dans le liquide lave-glace (pour lequel il est fortement concentré à 95%). Il est aussi utilisé comme cryoprotecteur, comme antigel dans divers solvants (peintures,...), et comme fluide hydraulique ou caloporteur dans l'industrie (Viala 1998 ; Rietjens et al. 2014).

* Propriétés physico-chimiques

L'éthylène glycol est un glycol de faible poids moléculaire (62,07mg/mol) et de formule chimique C₂H₆O₂ (éthane-1,2-diol). Il se présente sous la forme d'un liquide visqueux, inodore et incolore mais avec un goût sucré. Cette appétence fait qu'il est volontiers ingéré par les carnivores domestiques en particulier les chiens. Il est très stable et non volatil et soluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques (Viala 1998). Son point cryoscopique nettement plus bas que celui de l'eau pure est à l'origine de ses utilisations.

* Pharmacocinétique

L'éthylène glycol ingéré est rapidement absorbé aux niveaux gastrique et intestinal, surtout en l'absence de nourriture. La biodisponibilité chez le chien est de 86% et le pic sérique est atteint en 1 à 3 heures après l'ingestion.

Sa diffusion est rapide dans l'organisme, vers le liquide céphalo-rachidien et le système nerveux central en premier lieu. Dans un second temps, il est métabolisé par le foie. Cette métabolisation hépatique est oxydative et toxifiante : l'éthylène glycol est plusieurs fois oxydé par l'alcool déshydrogénase (ADH) jusqu'à l'obtention entre autres, d'acide oxalique (Joseph 1993 ; Rietjens et al. 2014). Les métabolites intermédiaires (glycoaldehyde, acide glycolique, acide glyoxylique, acide formique et acide lactique) sont fortement toxiques par rapport à la molécule de départ et provoquent une acidose sévère. L'acide oxalique se lie avec le calcium et forme des cristaux d'oxalate de calcium qui se déposent dans tout l'organisme et en particulier dans les reins mais aussi le myocarde, le système nerveux central et les poumons (Viala 1998; Rietjens et al. 2014).

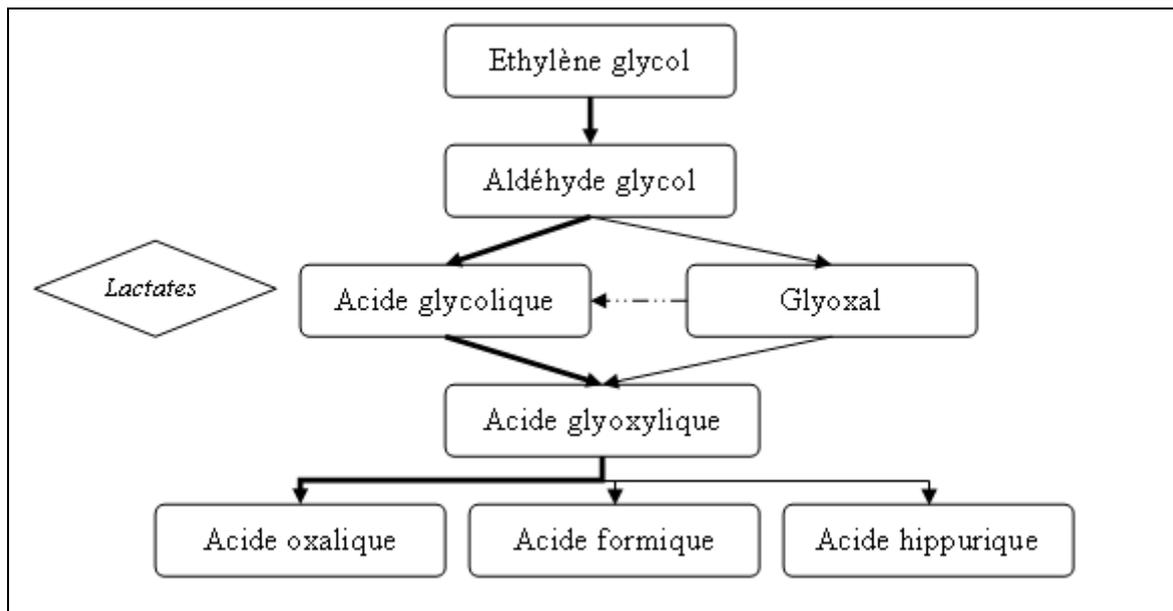


Figure 18 - Schéma de la métabolisation hépatique oxydative et toxifiante de l'éthylène glycol (Joseph 1993).

L'élimination se fait par les urines sous la forme d'éthylène glycol inchangé (20-50%) dans les heures qui suivent l'ingestion, provoquant une diurèse osmotique. Le reste est éliminé sous forme d'acide glycolique, d'acide oxalique (3%) et d'acide hippurique (<1%) (Viala 1998).

* Mécanisme toxique

L'éthylène glycol a en premier lieu, une action irritante sur la muqueuse gastrique. La stimulation du centre nerveux bulbaire provoque des nausées et vomissements d'apparition rapide. L'éthylène glycol a de plus une action propre sur le système nerveux central de courte durée, comparable à l'éthanol, puis un effet narcotique ou dépressur.

La toxicité plus sévère concerne surtout les métabolites. Les métabolites de l'éthylène glycol à fonction aldéhyde inhibent la phosphorylation oxydative, le métabolisme du glucose, la synthèse des protéines et la réplication de l'ADN. Les acides produits pendant la métabolisation sont responsables d'une acidose métabolique (Viala 1998).

Enfin l'acide oxalique forme des cristaux d'oxalate de calcium qui se déposent notamment dans les reins conduisant à une néphropathie mais aussi une hypocalcémie (Viala 1998 ; Rietjens et al. 2014). Les cristaux provoquent une obstruction des tubules rénaux contournés et une nécrose tubulaire. Cependant une néphrotoxicité directe par action cytotoxique sur l'épithélium tubulaire des métabolites aldéhydique et acides est décrite. Une insuffisance rénale aigüe consécutive à une néphrite épithéliale aigüe est le plus souvent responsable du décès de l'animal.

Les actions conjuguées de l'acide glycolique, de l'acidose métabolique, de l'hyperosmolarité plasmatique, de l'urémie, de l'hypocalcémie et parfois du dépôt d'oxalate de calcium dans les espaces péri-vasculaires de l'encéphale sont à l'origine de troubles neurologiques et cardiaques plus tardifs (Joseph 1993).

** Dose toxique*

Tableau 15- DL50 per os de l'éthylène glycol chez le chien et le chat (Grucker 2004).

	Chien	Chat
DL50 per os (solution pure)	6,6mL/kg	1,5mL/kg

Les doses toxiques sont rapidement atteintes, en particulier par les chiens qui sont attirés par le goût de l'éthylène glycol.

** Exposition*

Le plus souvent l'ingestion est accidentelle lors d'accès à du liquide antigel lors de la vidange de voiture ou de fuite. L'incidence est de ce fait saisonnière, prédominante de l'automne au printemps. Au C.N.I.T.V., 207 cas chez le chien et 27 cas chez le chat ont été rapportés entre 1991 et 2002, ce qui place l'éthylène glycol en tête des intoxications avec des produits ménagers chez le chien (Grucker 2004).

** Signes cliniques*

La présentation clinique des intoxications à l'éthylène glycol est souvent présentée comme séquentielle. Les premiers signes sont neurologiques dans les 12 heures suivant l'ingestion, comparables aux effets de l'éthanol dans un premier temps puis une dépression du système nerveux central et parfois ataxie, nystagmus, convulsions. Les effets cardio-pulmonaires se manifestent dans un second temps (tachycardie, tachypnée, hypertension) ainsi qu'une acidose métabolique ayant également des répercussions neurologiques. Une polyuro-polydipsie se met en place par effet osmotique. Enfin, les signes d'une insuffisance rénale aiguë apparaissent 24 à 48h après l'ingestion : douleur abdominale, oligurie, hyperazotémie, ulcères buccaux (Thrall, Hamar 2012). L'évolution aiguë se caractérise par une évolution vers la mort en 6 à 36h due aux effets neurologiques de l'éthylène glycol. L'évolution subaiguë amène vers la mort en 2 à 7 jours suite à une insuffisance rénale aiguë (Joseph 1993).

2) Lésions

L'examen du culot urinaire est déjà indicative, du vivant de l'animal ou à l'autopsie : les cristaux d'oxalate de calcium surtout monohydrates et biréfringents sont caractéristiques (VIALA 1998) malgré une cristallurie inconstante. Les cristaux monohydrates sont de taille variable et en forme de fuseau ou d'haltère alors que les dihydrates ont une forme « en enveloppe ». Dans le cas d'hyperoxalurie, comme c'est le cas dans les intoxications à l'éthylène glycol, les cristaux monohydrates sont nombreux, en amas et plutôt de grande taille. Des cristaux d'acide hippurique, très ressemblants aux cristaux d'oxalate de calcium monohydrates sont parfois observés. Enfin des signes de tubulopathie aigüe tels que la présence de cellules tubulaires ou de cylindres granuleux ou granulo-hyalins, sont observés à l'examen du culot urinaire. Enfin une mesure du pH urinaire à la bandelette montre une acidité des urines.

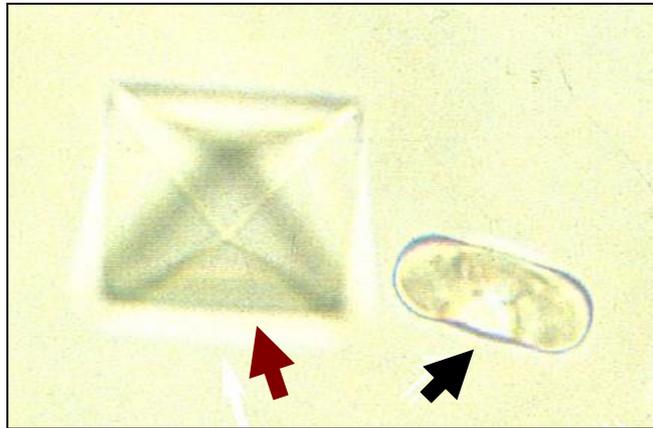


Figure 19 - Cristaux d'oxalate de calcium monohydrate (flèche noire) et dihydrate (flèche rouge) dans le sédiment urinaire d'un chien (x100) (Osborne, Stevens 2001).

Une partie des antigels produits aujourd'hui contient de la fluorescéine de sodium, normalement utilisée pour détecter les fuites. On peut donc observer cette fluorescence à la lumière de Wood dans la cavité buccale et dans les urines pendant les premières heures suivant l'ingestion (Thrall, Hamar 2012).

Les lésions anatomopathologiques observées suite à une intoxication à l'éthylène glycol ont été décrites dans plusieurs études (Pasca et al. 2012 ; Joseph 1993 ; Smith et al. 1990). Une congestion généralisée des tissus et des organes est le plus souvent décrite. Les reins sont congestionnés et œdématisés lors d'intoxication aigüe, avec des foyers hémorragiques. Dans les cas d'intoxication subaigüe, ils sont plutôt pâles, à la surface irrégulière et striés de bandes jaunes ou grises à la jonction cortico-médullaire. Des pétéchies discrètes sont éventuellement

présentes. A la coupe, on peut entendre un crissement qui révèle la présence de minéralisation, en l'occurrence la présence de cristaux d'oxalate de calcium. Le cœur est lui aussi congestionné ou décoloré, flasque avec une dilatation ventriculaire le plus souvent bilatérale. Des hémorragies subendocardiques et myocardiques sont observées ainsi que, pour des évolutions plus tardives aboutissant à une insuffisance rénale aigüe, des lésions urémiques endocardiques se présentant sous la forme de zones rugueuses pâles et irrégulières de minéralisation en particulier à l'insertion cardiaque de l'aorte et des artères pulmonaires. L'atrium gauche est également atteint avec des lésions d'endocardite murale, de nécrose ou d'ulcération avec dépôt de cristaux de calcium (Luginbühl, Detweiler 1965). Les poumons sont dilatés, pâles ou hyperhémisés avec un liquide mousseux rougeâtre observé à la coupe et dans la trachée. La rate est systématiquement de taille augmentée, rouge foncé, signes de stase splénique. Une gastroentérite congestive sévère et diffuse, se caractérise par une muqueuse gastrique et duodénale épaissie, souvent de coloration brune avec beaucoup de mucus et quelques hémorragies sous la forme de suffusions ou de pétéchies. En phase urémique, des ulcérations gastriques sont observées. Le foie présente des foyers hémorragiques centrolobulaires.

Les lésions macroscopiques ne sont cependant pas pathognomoniques, en revanche l'histologie est très caractéristique d'une intoxication à l'éthylène glycol ou aux oxalates. L'intoxication aux oxalates concerne surtout l'ingestion de plantes à oxalates, en premier lieu de la famille des Aracées avec comme chef de file le *Dieffenbachia* et le *Philodendron*. Ce sont les intoxications par les plantes parmi les plus fréquentes, en particulier chez le chat (Mailland 2011). D'autres plantes contiennent des oxalates comme l'agave, les euphorbiacées ou les amarantacées (Reyers, Naude 2012).

A l'histologie, le diagnostic passe par la recherche de cristaux d'oxalate de calcium dans l'arbre urinaire rénal, en particulier à la jonction corticomédullaire, et dans l'adventice des capillaires sanguins ainsi que dans les espaces périvasculaires du système nerveux central. Les premières lésions histologiques apparaissent rapidement lors d'intoxication à l'éthylène glycol : dès 5 heures post-ingestion (Smith et al. 1990).

Le rein présente des lésions tubulaires dégénératives sévères atteignant principalement les tubes contournés proximaux. On observe une nécrose de l'épithélium tubulaire, une prolifération fibreuse et lymphoplasmocytaire. Les cellules sont vacuolisées acidophiles avec un noyau pycnotique et une distension de l'espace extracellulaire parabasal précédant la

rupture cellulaire. Les néphrocytes ont un noyau pycnotique et un cytoplasme granuleux. Des cylindres hyalins sont présents dans l'épithélium tubulaire et une congestion glomérulaire est notée. Dans les tubules contournés, on note le dépôt de cristaux d'oxalate de calcium, intraluminaux irréguliers, jaunes pâles, biréfringents en lumière polarisée et mis en évidence par la coloration au nitrate d'argent de Pizzolato.

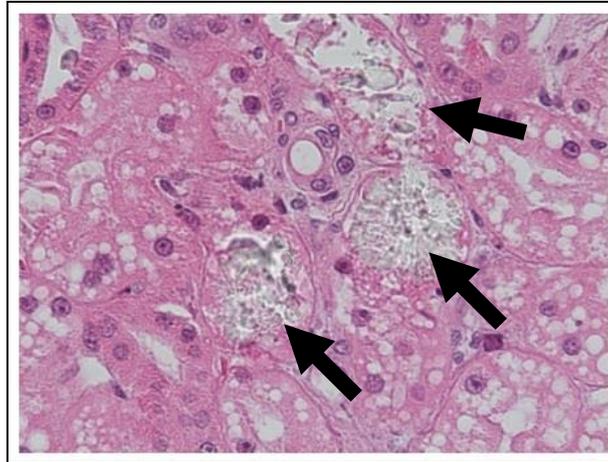


Figure 20 - Cristaux d'oxalate de calcium dans un rein de chien intoxiqué à l'éthylène glycol (coloration hémalum-éosine, grossissement 400x). Photo : Service d'anatomie pathologique de l'ENVV.

Le cœur présente une dystrophie granulaire sévère et parfois un œdème sub-épicardique.

Les poumons sont congestionnés et œdématisés avec des capillaires interstitiels dilatés, un transsudat et des hémosidérocyles observables dans les alvéoles. Un œdème cérébral est systématiquement relevé avec des cristaux d'oxalate de calcium dans les vaisseaux méningiaux. Les cellules endothéliales des capillaires cérébraux sont hypertrophiées, et le dépôt de cristaux est à rechercher dans l'adventice et dans les espaces périvasculaires. Les sinus spléniques sont remplis de nombreuses hématies mais peu de lymphocytes, la capsule et les trabecules sont épaissies, les hémosidérocyles sont nombreux. Le foie présente une congestion des veines centrolobulaires et des capillaires sinusoides.

Les lésions rénales et méningoencéphaliques sont caractéristiques de l'intoxication à l'éthylène glycol. On peut également observer des lésions secondaires à l'insuffisance rénale aiguë comme une nécrose fibrinoïde dans les vaisseaux du tissu conjonctif subendocardique et dans les vaisseaux pariétaux du tube digestif à l'origine d'ischémie, de nécrose et d'ulcération des tissus.

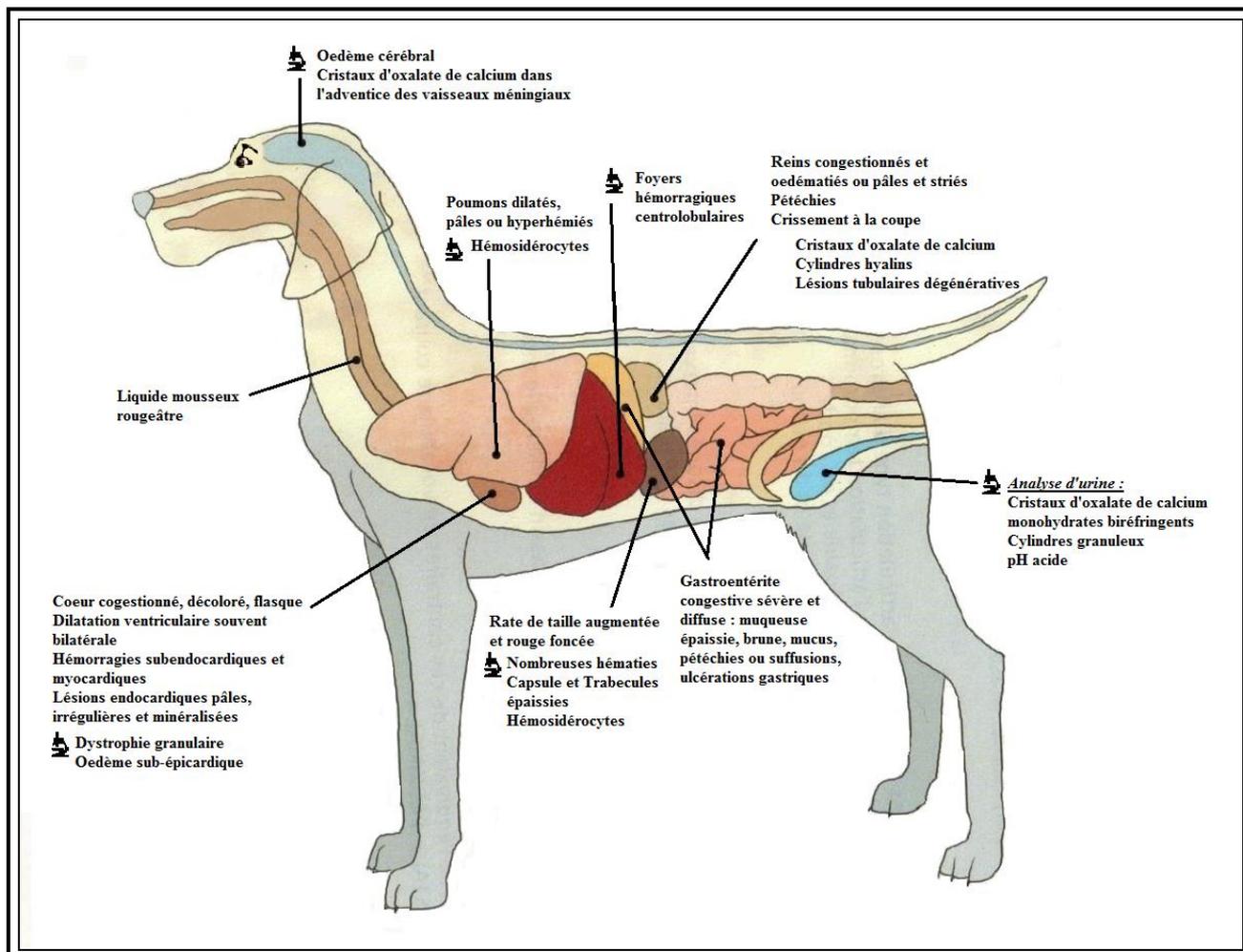


Figure 21 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par l'éthylène glycol chez les carnivores domestiques.

3) Diagnostic de certitude

Le plus souvent, le diagnostic s'arrête aux lésions histologiques rénales et méningoencéphaliques. Cependant, pour être rigoureux, le diagnostic différentiel impose d'éliminer les autres raisons d'hyperoxalurie comme les intoxications par des plantes à oxalates, le plus souvent par l'anamnèse. Pour l'analyse toxicologique, les prélèvements de choix sont le contenu gastrique, le sang (plasma), l'urine, le rein et l'encéphale (Viala 1998). On peut rechercher l'éthylène glycol sous forme inchangée (en particulier dans le contenu gastrique) ou certains métabolites en particulier l'acide glycolique ou l'acide oxalique. Plusieurs méthodes sont disponibles pour diagnostiquer l'intoxication.

La recherche de l'éthylène glycol peut se faire par des méthodes colorimétriques ou enzymatiques, méthodes peu répandues et peu spécifiques. Les méthodes chromatographiques sont les plus précises mais les moins accessibles. Très peu de laboratoires d'analyses

toxicologiques sont équipés pour rechercher l'éthylène glycol, et la plupart utilise la chromatographie gazeuse.

Les méthodes colorimétriques sont basées sur l'oxydation de l'éthylène glycol en formaldéhyde. Les limites de détection dans le sérum sont de 0,48mmol/L. Un test qualitatif colorimétrique sur sérum (EGT®, PRN Pharmacal, Pensacola, Fl.) a été commercialisé en médecine vétérinaire aux Etats-Unis avec une excellente sensibilité (100%) et une moins bonne spécificité (88,8%).

Les méthodes enzymatiques consistent à mesurer le produit de l'action d'une enzyme sur l'éthylène glycol.

La chromatographie gazeuse de l'éthylène glycol est difficile car c'est un composé difficilement vaporisé, avec une forte polarité et dont l'extraction du milieu aqueux est difficile en raison de sa solubilité. La limite de détection est de 0,48mmol/L, celle-ci peut être abaissée sous 0,16mmol/L avec une dérivation. La dérivation permet d'améliorer les propriétés chromatographiques de l'éthylène glycol en le transformant en un produit plus volatil et moins polaire comme un benzolyester. Des interactions positives peuvent avoir lieu avec le propylène glycol qui est souvent un composant de médicaments.

La chromatographie est le plus souvent complétée par un spectromètre de masse pour l'identification. La détection de l'acide glycolique utilise le plus souvent la chromatographie gazeuse mais elle est encore moins répandue que la détection de l'éthylène glycol.

La chromatographie en phase liquide souffre du fait que ni l'éthylène glycol ni l'acide glycolique n'ont un spectre d'absorption dans les ultra-violets. Ils doivent également être dérivés avant de pouvoir utiliser une chromatographie liquide à haute performance avec la détection UV traditionnelle.

Dans l'idéal, des méthodes recherchant à la fois l'éthylène glycol et l'acide glycolique sont préférables car la corrélation entre les concentrations de ces deux composés est très faible. De bons résultats sont obtenus par une spectrométrie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Porter 2012).

II.2.3- Toxiques entraînant des lésions non spécifiques

II.2.3.1 - Strychnine

1) Présentation

La strychnine est un alcaloïde extrait de la noix vomique (*Stychnos nux vomica*), une plante originaire d'Asie. Elle était utilisée comme pesticide (rodenticide et taupicide) depuis le 16^e siècle (Shadnia 2004) et pour le contrôle de la population de renards. Mais suite à une toxicité trop importante, l'usage phytosanitaire de la strychnine a été restreint puis interdit en France depuis l'année 2000. Cependant les intoxications, bien qu'en diminution, ne sont pas exceptionnelles en raison de l'existence de stocks en particulier dans des pays frontaliers comme l'Espagne ou l'Italie où l'interdiction a été plus tardive (Berny et al. 2010).

* Propriétés physico-chimiques

La strychnine se présente sous la forme d'une poudre blanche cristalline, sans odeur et au goût amer (Gupta 2012). Sa solubilité dans l'eau est faible à modérée mais elle est soluble dans l'alcool et le formol. Très stable, elle persiste longtemps dans l'environnement (Talcott 2006).

* Pharmacocinétique

La strychnine est rapidement absorbée par le tractus gastro-intestinal, en particulier dans le jéjunum et sa distribution est très rapide (Gupta 2012). L'élimination est assurée par une métabolisation hépatique rapide via le cytochrome P450 (80%) (Shadnia 2004). Les 20% restants sont éliminés sans transformation dans les urines (Gounari 2006).

* Mécanisme toxique

La strychnine interfère avec l'action inhibitrice de la glycine par action compétitive antagoniste sélective sur les récepteurs post-synaptiques des motoneurons. Elle diminue le seuil d'excitabilité de la moelle épinière ce qui conduit à la perte de l'inhibition normale du système nerveux central sur les neurones moteurs (Gounari 2006 ; Gupta 2012). Elle provoque en plus l'augmentation de l'acide glutamique dans l'encéphale qui est un neurotransmetteur excitateur. Le résultat est une hyperexcitabilité des muscles squelettiques qui se traduit par des convulsions provoquées par le moindre stimulus sensitif (Gupta 2012).

** Dose toxique*

Tableau 16 - Dose létale de la strychnine chez le chien et le chat (Gounari 2006).

	Chien	Chat
DL 50 per os (mg/kg)	0,75	2

** Exposition*

Les chiens sont les plus souvent exposés, bien avant les chats. Cependant toutes les espèces sont sensibles à la strychnine. Les circonstances d'intoxication sont le plus souvent criminelles pour ce toxique (Gupta 2012).

** Signes cliniques*

La clinique est celle d'une excitation neuronale exacerbée : hyperactivité, hypertonie musculaire, hyperréflexivité, convulsions essentiellement toniques, parfois cloniques, opisthotonos, hyperesthésie à tous stimulus, cyanose, polypnée, hyperthermie, mydriase, douleur, raideur cervicale, anxiété. Cependant, la conscience n'est pas altérée (Shadnia 2004), (Gupta 2012). L'apparition des signes cliniques est rapide : en général 15 à 30 minutes après l'ingestion, dans tous les cas moins d'une heure selon le remplissage stomacal. La mort survient en général dans les 2 à 6 heures par paralysie des muscles respiratoires (Gounari 2006). Si la mort n'est pas imminente, les complications peuvent être une rhabdomyolyse et une insuffisance rénale aiguë (Gupta 2012).

2) Lésions

Les lésions sont peu spécifiques et frustes, d'autant que la durée d'évolution est courte. On observe une congestion généralisée de la carcasse et en particulier du foie, des reins, des poumons et de l'encéphale. La rigidité cadavérique est en général précoce et longue mais ce signe est inconstant. Les substances toxiques peuvent être observées encore présentes dans le contenu stomacal (Talcott 2006 ; Gupta 2012). La strychnine provoque parfois des hémorragies pancréatiques (Pouliquen 2002) et des hémorragies pulmonaires ponctiformes (Gupta 2012). Une nécrose extensive du cortex cérébral et du tronc cérébral a été rapportée en médecine humaine (Talcott 2006).

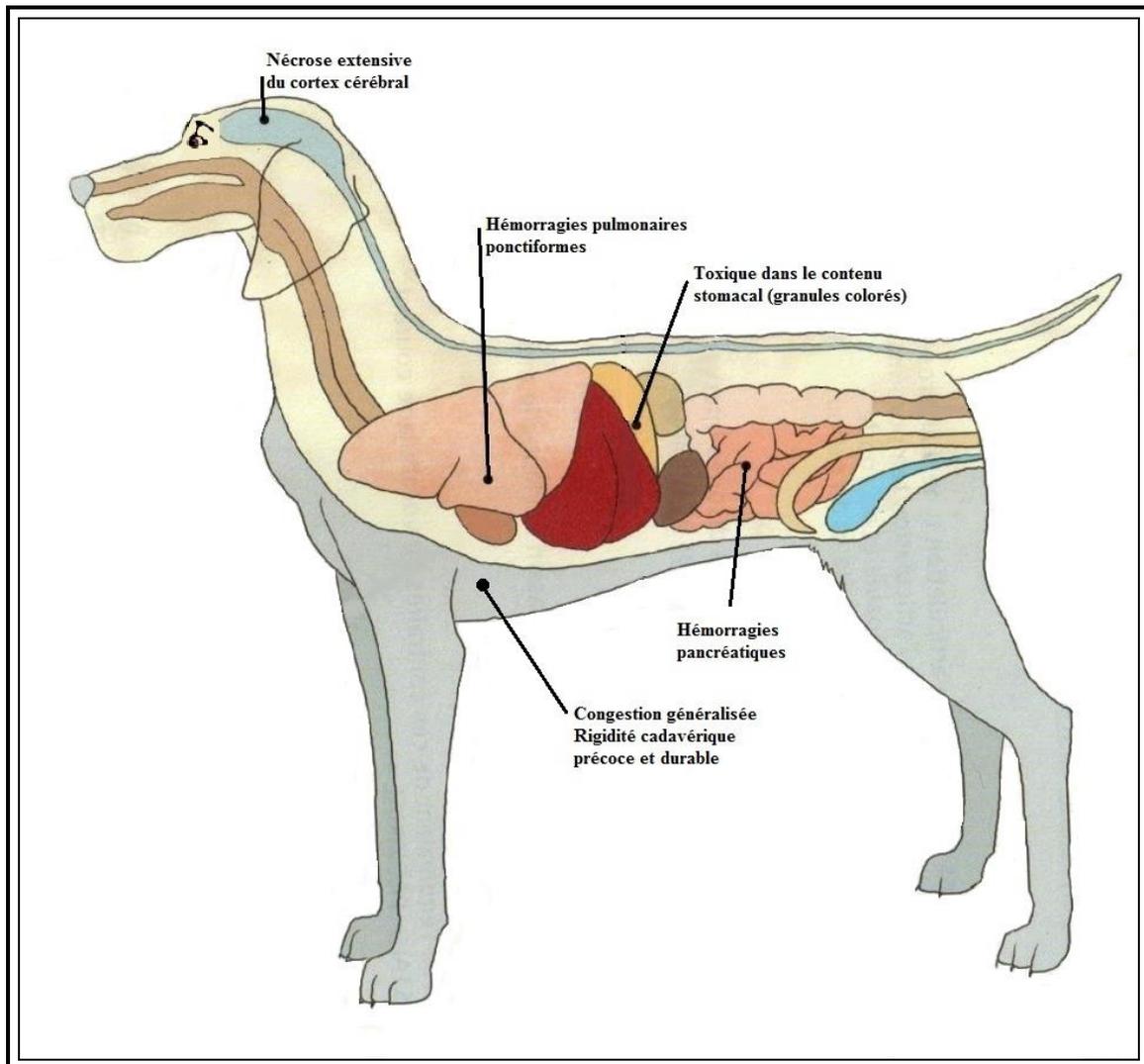


Figure 22 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par la strychnine chez les carnivores domestiques.

3) *Diagnostic de certitude*

Les prélèvements de choix sont le contenu stomacal, les urines ou les appâts en première intention, le sang, le foie ou le rein dans un second temps. Le diagnostic se fait principalement par chromatographie gazeuse associée à la spectrométrie de masse (Gupta 2012). Avec des moyens plus limités, une chromatographie sur couche mince associée à une comparaison à la migration de témoin peut suffire à l'identification.

4) Illustrations par des cas de terrain

Quatre cas autopsiés d'intoxication à la strychnine ont été rapportés dans les centres anti-poisons vétérinaires depuis 2008. Ils ne concernent que des chiens adultes. Les lésions décrites sont non spécifiques mais relativement constantes : rigidité cadavérique (2/4), cyanose (4/4), congestion généralisée (3/4). Ces observations sont cohérentes avec les données bibliographiques : seule la cyanose, pourtant observée chez tous les cas, n'est pas présente dans les descriptions bibliographiques. En revanche les hémorragies décrites ne sont pas rapportées sur les cas de terrain. Il en est de même pour les lésions cérébrales mais cette absence de description peut être expliquée par le fait que l'examen nécropsique de l'encéphale n'est pas couramment réalisé en pratique et encore moins son histologie. Les commémoratifs rapportent systématiquement des convulsions et une mort rapide (4/4). Les échantillons de choix sont le contenu gastrique (éventuellement comparé aux appâts). Un cas intéressant montre des résultats faiblement positifs sur le contenu gastrique mais négatifs sur les urines : cette situation souligne l'intérêt de cibler les prélèvements aux échantillons les plus sensibles, mais aussi de confirmer un résultat négatif par l'analyse d'un autre échantillon.

Les résultats d'analyses montrent des résultats positifs à la strychnine mais très hétérogènes : les concentrations détectées dans l'estomac s'échelonnaient de 11,4 µg/g à 3139 µg/g. Cependant, les tableaux lésionnels ne sont pas sensiblement différents. En revanche, il aurait été intéressant d'étudier une corrélation entre les doses détectées et les durées d'évolution des signes cliniques. Ces données ne sont malheureusement pas précisées. En revanche, seul le chien ayant eu la dose la plus faible de strychnine est arrivé vivant chez son vétérinaire où le traitement anticonvulsivant a été vain.

Tableau 17 - Cas de terrain d'intoxication à la strychnine confirmés par une analyse toxicologique et autopsiés.

Commémoratifs	Anamnèse	Autopsie	Echantillon	Analyse	Résultats LD < 1µg/g
Chien croisé 3 ans Mâle	Convulsions toniques d'apparition brutale, ne répondant pas au traitement anticonvulsivant puis mort	- Rigidité cadavérique , membre en hyper-extension - Cyanose des muqueuses	CG Urine	HPTLC HPTLC	Strychnine 11,4 µg/g < 5µg/g
Chien Rottweiler adulte Mâle	Convulsions après ingestion d'appâts puis mort	- Cyanose généralisée - Légère congestion du foie et de la paroi digestive - Contenu stomacal bleu- violacé (même couleur que les appâts)	CG Appâts	HPTLC HPTLC	Strychnine 318 µg/g 352 µg/g
Chien croisé 1 an Mâle	Convulsions cloniques d'apparition brutale puis mort	- Rigidité cadavérique , membre en hyper-extension - Cyanose des muqueuses - Rate décolorée - Cæcum de taille augmenté et décoloré	Contenu gastrique (CG)	HPTLC	Strychnine 611,6 µg/g
Chien Malinois 2 ans Femelle	Convulsions puis mort brutale	- Cyanose généralisée - Congestion pulmonaire et cardiaque	CG	HPTLC	Strychnine 3139 µg/g IDC/ métaldéhyde / chloralose : négatif

Légende : CG = contenu gastrique ; HPTLC = High Performance Thin Layer Chromatography ; LD = limite de détection

II.2.3.2 - Chloralose

1) Présentation

Le chloralose (ou gluco-chloral) est un organochloré dont l'utilisation comme corvicide, taupicide et souricide est réglementée (Gounari 2006). Il a été historiquement utilisé comme anesthésique sur les animaux de laboratoire en raison de ses propriétés dépressives sur le système nerveux central (Segev et al. 2006).

**** Propriétés physico-chimiques***

Il s'agit d'une substance cristalline blanche, insipide, inodore et liposoluble (Gounari 2006). Elle est obtenue synthétiquement par condensation d'un chloral et d'un glucose (Segev et al. 2006). Seul l'isomère alpha présente les propriétés hypnotiques recherchées, en revanche le bêta-chloralose est un puissant convulsivant (Mailland 2011).

**** Pharmacodynamique***

L'alpha-chloralose est hydrolysé dans l'estomac en glucose et chloral, à son tour réduit en trichloroéthanol, molécule soluble avec une bonne diffusion dans l'organisme, notamment vers l'encéphale par passage de la barrière hémato-méningée. Le trichloroéthanol subit une glucuronoconjugaison hépatique en acide urochloralique (composé non toxique) qui est éliminé par le rein avec l'aldéhyde chloralique (Gounari 2006 ; Segev et al. 2006). La déficience en enzymes de la glucuronoconjugaison chez le chat explique en partie sa plus grande sensibilité (Mailland 2011).

**** Mécanisme toxique***

Le chloralose agit sur l'encéphale où il provoque des déséquilibres hydroélectriques et acido-basiques à l'origine d'une hypertension intracrânienne (Gounari 2006). A faible dose, il provoque une excitation par suppression des mécanismes inhibiteurs descendants. A plus forte dose, il provoque une dépression par suppression du système réticulé ascendant (Segev et al. 2006).

** Dose toxique*

Tableau 18 - Doses toxiques du chloralose chez les carnivores domestiques (Mailland 2011 ; Segev et al. 2006).

en mg/kg	Chien	Chat
DL50	1000	300 - 400
Dose minimum létale	600	100
Dose minimum toxique		10

La différence de sensibilité au chloralose entre ces deux espèces peut être expliquée par une différence de métabolisme hépatique (le chat est déficient en enzyme de glucurono-conjugaison), et par le ratio surface corporelle / poids (Segev et al. 2006).

** Exposition*

Les chats sont plus fréquemment exposés que les chiens malgré un comportement alimentaire plus sélectif. Il s'agit du 4^e toxique le plus fréquent dans cette espèce cependant, les circonstances d'intoxication sont souvent inconnues (Mailland 2011). Une intoxication secondaire par ingestion de proies empoisonnées ne peut être exclue (Segev et al. 2006).

** Signes cliniques*

La clinique se traduit par une dépression et une stimulation du système nerveux central. Selon la dose ingérée, trois formes sont décrites :

- la forme suraigüe se traduit par une mort subite ;
- la forme aigüe provoque, après 30 minutes à une heure, prostration, ataxie, hypersalivation puis évolue d'abord vers le coma avec bradycardie, bradypnée et hypothermie puis vers une hyperexcitabilité provoquant des convulsions tonico-cloniques ;
- la forme subaigüe se traduit par des signes frustes d'ataxie et de somnolence (Gounari 2006 ; Segev et al. 2006).

2) Lésions

Les lésions sont frustes et très peu spécifiques. Une congestion généralisée est classiquement décrite (Mailland 2011) ainsi qu'une inflammation du tractus gastro-intestinal.

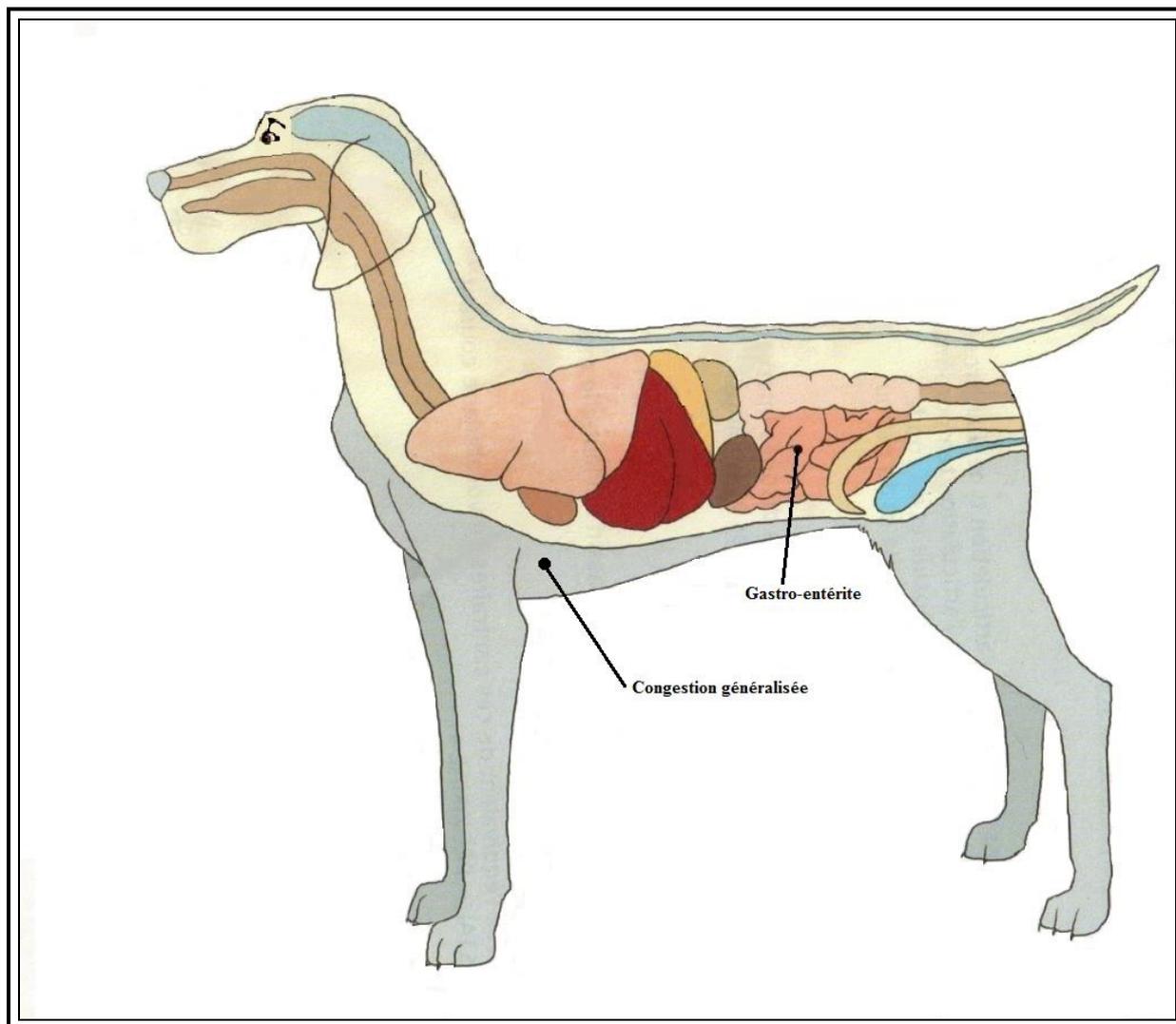


Figure 23 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par le chloralose chez les carnivores domestiques.

3) Diagnostic de certitude

Les prélèvements de choix sont le contenu gastrique, les urines et les appâts. Le chloralose était historiquement détecté par une méthode colorimétrique sur les urines ou le contenu gastrique : la réaction de Fujiwara-Ross ou test à la pyridine met en évidence les groupements trichlorés par une coloration rose-rouge (Segev et al. 2006). C'est une méthode simple et sensible mais peu spécifique et dont le réactif principal, la pyridine, est un toxique à manipuler avec précaution (Kouraichi et al. 2010). La technique analytique aujourd'hui utilisée est la chromatographie en phase gazeuse associée à un détecteur à absorption électronique qui permet un seuil de détection de 2 mg/kg (C.N.I.T.V. 2007). Une étude a montré que le trichloroéthanol, métabolite sous laquelle est éliminée une grande partie du chloralose, n'était pas détectable dans le sang ou les urines (Segev et al. 2006).

4) Illustrations par des cas de terrain

Trois cas d'intoxications au chloralose avec autopsie ont été confirmés par les laboratoires d'analyses toxicologiques vétérinaires depuis 2008 dont deux chats concernés. L'anamnèse rapporte systématiquement une mort brutale, et l'autopsie est très peu évocatrice : la congestion a été le seul signe rapporté sur le premier cas, des muqueuses pâles sont décrites sur les deux chats. Ce tableau nécropsique fruste est en accord avec la description bibliographique cependant la congestion rapportée n'est pas systématique et aucun signe de gastro-entérite n'est signalé. Les échantillons traités ont été le contenu gastrique et les urines, par chromatographie gazeuse associée à un détecteur d'absorption électronique ou à un spectromètre de masse.

Tableau 19 - Cas de terrain d'intoxication au chloralose confirmés par une analyse toxicologique et autopsiés

Commémoratifs	Anamnèse	Autopsie	Echantillon	Analyse	Résultats LD < 2µg/g
Chien beagle 1,5 an Mâle	Trouvé mort	- péritoine légèrement congestif	Urine CG	GC- ECD HPTLC / GC- MS	Chloralose 172 mg/L strychnine, métaldéhyde, crimidine, IDC, OC => négatif
Chat Européen 3 ans Femelle	Trouvé mort	- muqueuses pâles et cyanosées, - hémorragie intra-vitréenne, - ecchymoses - suffusions péritonéales - dilatation aérique du tube digestif	CG	GC-MS	Chloralose 8 µg/g métaldéhyde, strychnine, AVK => négatif
Chat européen 10 ans Femelle	Trouvé mort	- muqueuses pâles - absence de coagulation	CG foie	GC-MS HPTLC	Chloralose 8,8 µg/g AVK => négatif

Légende : CG = contenu gastrique ; HPTLC = High Performance Thin Layer Chromatography ; GC-ECD = Gas Chromatography – Electron Capture Detector ; GC-MS = Gas Chromatography – Mass Spectrometry ; LD = limite de détection ; IDC = Inhibiteur des cholinestérases ; OC = Organochlorés ; AVK = rodenticides anticoagulants anti-vitamine K

II.2.3.3 - Organophosphorés et carbamates

1) Présentation

Couramment utilisés dans l'agriculture et l'industrie à partir des années 1950 et parfois comme antiparasitaires externes, les inhibiteurs des cholinestérases regroupent deux familles : les organophosphorés et les carbamates. Plus d'une cinquantaine de molécules sont répertoriées et elles peuvent être utilisées dans les jardins principalement comme insecticides (le plus souvent pour les cultures) mais parfois comme molluscicides. Les associations sont possibles dans une même spécialité. Certains produits, parmi les plus toxiques, ont été retirés du marché comme l'aldicarbe ou le carbofuran (Gounari 2006), d'autres sont réservés à un usage professionnel. Globalement leur utilisation est en régression (Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

Tableau 20 - Listes des molécules inhibitrices des cholinestérases selon leur famille et leur autorisation d'utilisation dans l'Union Européenne (Berny, Queffelec 2014).

	Organophosphorés	Carbamates
Interdites	azinphos éthyl, azinphos méthyl, bromophos éthyl, carbophénothion, chlorméphos, déméthion, diéthion, dioxathion, disulfoton, fenthion, fonofos, formothion, métamidophos, méthidathion, mévinphos, monocrotophos, ométhoate, parathion éthyl, parathion méthyl, phasalone, phosphamidon, prothoate, pyrimiphos étyl, sulfotep, terbuphos	aldicarbe, benfuracarbe, carbaryl, carbofuran, carbosulfan, furathiocarbe, proxopur, thiofanox, vamidothion
Autorisées	chlorpyriphos éthyl, chlorpyriphos métyl, diazinon, dympylate, dichlorvos, diméthoate, fénitrothion, malathion, oxydéméton méthyl, phosmet, phoxime, propétamphos, pyrimiphos méthyl, temephos, trichlofon	bendiocarbe, méthiocarbe, mercaptodimétur, méthomyl, pyrimicarbe, thiocarbe

** Propriétés physico-chimiques*

Les organophosphorés sont des esters, thiols ou amides dérivés de l'acide phosphorique, stables en milieu acide et liposolubles (Gounari 2006; Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014). Les carbamates sont eux plutôt basiques. Il s'agit de composés de faible poids moléculaire avec une bonne réactivité chimique et physique mais des composés soufrés plus stables sont synthétisés pour leur rémanence. Malgré une grande variabilité dans leur formule chimique, les organophosphorés partagent un point commun structurel : un phosphore pentavalent et une liaison phosphoryle ou thiophosphoryle. Les carbamates sont quant à eux des esters d'acide carbamique (Gupta, Milatovic 2012).

** Pharmacodynamique*

Leur caractère lipophile explique une distribution vers l'encéphale et le tissu graisseux responsable de la longue durée des signes d'intoxication (Gounari 2006). L'absorption, la métabolisation et l'élimination sont rapides. Le pic plasmatique est donc très rapide. L'absorption peut se faire par voie digestive, cutanée ou respiratoire. Les biotransformations sont multiples et font intervenir le cytochrome P450, des hydroxylations ou des s-oxydations, notamment dans le foie. L'élimination est rapide, principalement urinaire sous forme de métabolites (Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

** Mécanisme toxique*

Les inhibiteurs des cholinestérases ont une analogie structurale avec l'acétylcholine. L'acétylcholine est un neurotransmetteur des synapses cholinergiques. L'acétylcholinestérase termine le signal en hydrolysant l'acétylcholine. Elle est présente dans le système nerveux central et périphérique mais aussi au niveau des jonctions neuromusculaires et sur les érythrocytes. Les inhibiteurs des cholinestérases agissent en compétition avec l'acétylcholine sur les sites actifs des cholinestérases bloquant son hydrolyse et inactive l'enzyme par la phosphorylation du groupe hydroxyle serine. L'acétylcholine s'accumule alors dans les synapses et la dépolarisation induite par sa fixation sur les récepteurs post-synaptiques est prolongée. L'acétylcholine agit sur la contraction volontaire des muscles striés au niveau des plaques motrices. Elle intervient également dans la conduction des systèmes nerveux autonomes : relai ganglionnaire du système nerveux orthosympathique, relai ganglionnaire et effecteur final du système nerveux parasymphatique. Une autre cholinestérase inhibée est la butyrylcholinestérase présente dans le foie et le sérum. Son rôle dans le mécanisme toxique

n'est pas bien connu. L'inhibition des cholinestérases est réversible avec les carbamates et irréversible avec les organophosphorés du fait de la création d'une liaison covalente par ces derniers (Gounari 2006; Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

* Dose toxique

Les doses toxiques sont variables selon les molécules (Gounari 2006), certaines sont précisées dans le tableau ci-dessous. Les doses létales ne sont pas toujours connues chez les carnivores domestiques.

Tableau 21 - Dose létale 50 de certains inhibiteurs des cholinestérases chez le chien et le chat (Bates 2000; Bates, Campbell 2000).

Molécule	DL50 per os chez le chien	DL50 per os chez le chat
<i>Aldicarbe</i>	5-10 mg/kg	
<i>Carbofuran</i>	15-19 mg/kg	
<i>Méthiocarbe</i>	25 mg/kg	20-50 mg/kg
<i>Dichlorvos</i>	100 mg/kg	
<i>Carbaryl</i>	250-795 mg/kg	
<i>Dimethoate</i>	400 mg/kg	
<i>Chlorfenvinphos</i>	1200 – 5000 mg/kg	

* Exposition

Les chiens sont les principales victimes de ces intoxications, le plus souvent accidentelles. La voie d'exposition est majoritairement orale mais une intoxication par passage percutané, conjonctival ou par inhalation est possible. Les effets toxiques les plus graves font suite à une exposition par inhalation (Gounari 2006 ; Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

* Signes cliniques

Les signes cliniques apparaissent dans les deux heures suivant l'exposition par voie orale. Ce délai est de 12h par voie transcutanée (Gounari 2006). Trois phases se succèdent indistinctement :

- La phase muscarinique est caractérisée par l'augmentation générale des sécrétions (hypersalivation, épiphora, hypersécrétion bronchique) et une contraction de la musculature lisse (vomissements, diarrhée, bronchoconstriction, myosis, mictions incontrôlées) accompagnées de troubles cardiaques (bradycardie, bloc auriculo-ventriculaire).
- La phase nicotinique a des effets opposés : arrêt des sécrétions, mydriase, vasoconstriction, tachycardie, tremblements et fasciculations.
- La phase terminale signe l'atteinte du système nerveux central avec des convulsions évoluant vers un coma (Gounari 2006 ; Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

Le décès de l'animal peut survenir à tout moment, le plus souvent dans les 24h suivant l'exposition, suite à une détresse respiratoire d'origine centrale dans la phase nicotinique. Certains organophosphorés, le malathion notamment, présentent une toxicité nerveuse retardée et atténuée. Cependant, la démyélinisation ascendante responsable de la paralysie est irréversible (Gounari 2006).

2) Lésions

Les lésions sont également peu spécifiques pour ces toxiques. Sont décrits : une congestion généralisée, des hémorragies musculaires, pulmonaires, cardiaques et digestives, un œdème pulmonaire, une inflammation digestive, une hypersécrétion digestive, bronchique et salivaire dans la phase muscarinique (Berny, Queffelec 2014), une cyanose, et des lésions de pancréatite chez le chien (Blodgett 2006). Une atélectasie pulmonaire marquée ayant pour origine un important bronchospasme peut être observée. Enfin le contenu gastrique peut être coloré.



Figure 24 - Contenu gastrique bleuté chez un chien intoxiqué au Carbofuran.
Photo : service d'anatomie pathologique de l'ENVT.

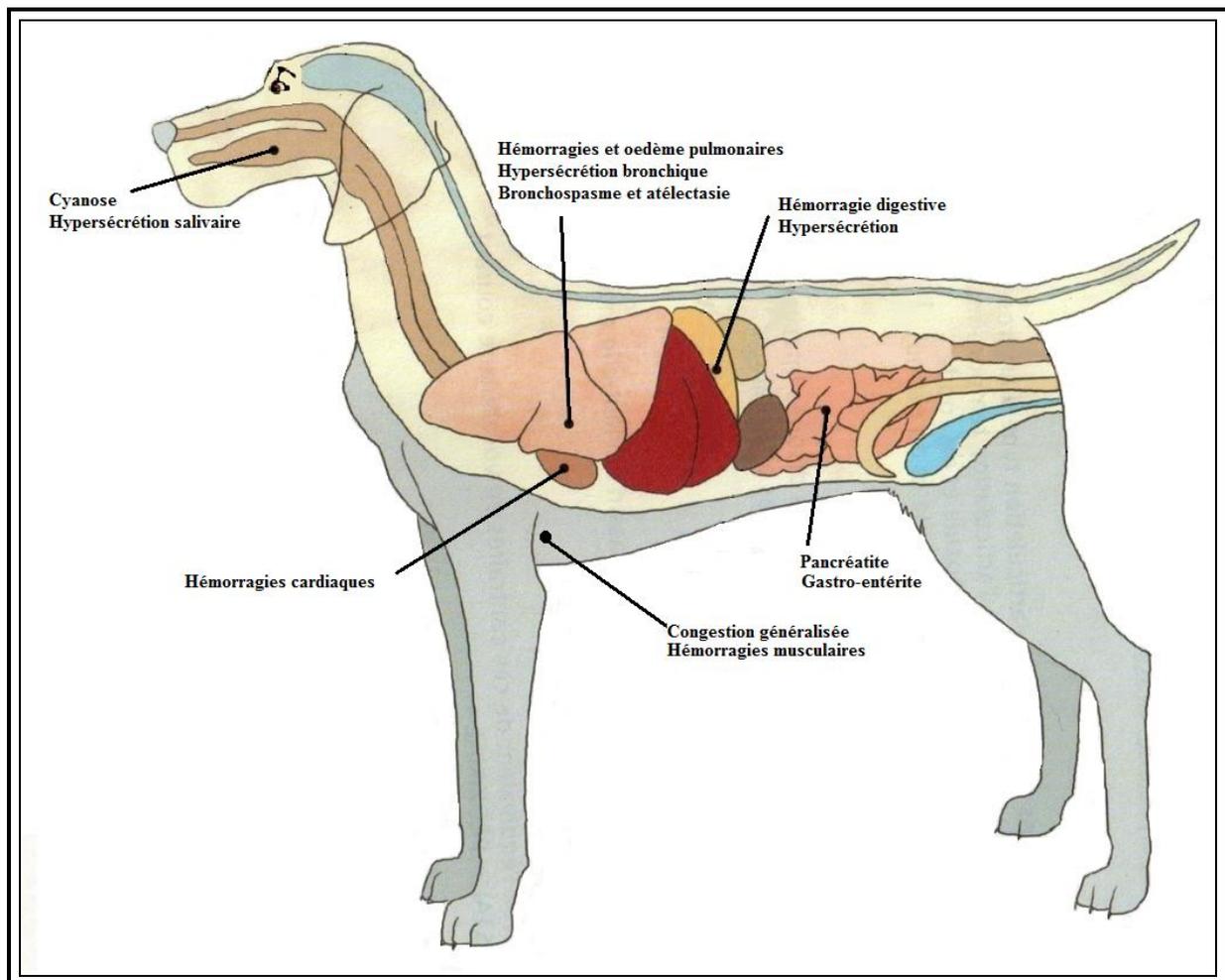


Figure 25 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par les inhibiteurs des cholinestérases chez les carnivores domestiques.

3) *Diagnostic de certitude*

Le diagnostic des intoxications aux anti-cholinestérasiques passe soit par la quantification du niveau d'inhibition de l'acétylcholinestérase soit par l'identification direct du toxique et de ces métabolites. L'acétylcholinestérase des jonctions musculaires n'étant pas accessible, on préfère tester l'inhibition des cholinestérases érythrocytaires (du vivant de l'animal) ou à défaut celles de l'encéphale. Le diagnostic est positif au-delà de 70% d'inhibition. Cependant, il existe une variabilité entre les espèces animales mais aussi selon les régions du cerveau et la méthode utilisée. Pour une analyse post-mortem, il est préférable de trouver directement le toxique ou ses métabolites (en particulier les phosphates de dialkyl (DAP)) par chromatographie sur couche mince haute performance ou par une chromatographie gazeuse associée à une spectrométrie de masse. Les prélèvements de choix sont le contenu gastrique, le foie ou les appâts (Gupta, Milatovic 2012 ; Chowdhary, Bhattacharyya, Banerjee 2014).

4) Illustrations par des cas de terrain

Neuf cas de terrain d'intoxication confirmée aux inhibiteurs des cholinestérases et autopsiés ont été recueillis auprès du CNITV depuis 2008. Ces intoxications concernent 3 chats et 6 chiens, adultes (entre 1 et 7 ans). Le plus souvent l'anamnèse se résume à une mort brutale. Lorsque des signes ont été observés, il s'agit de troubles digestifs, de crises convulsives, d'une bradycardie et d'état comateux. Les lésions observées lors de l'examen nécropsique sont variées et peu spécifiques. Parmi les plus rapportées, on note une congestion (6/9), un contenu digestif anormal (5/9), un épanchement (3/9), une absence de coagulation sanguine (3/9), une pâleur des muqueuses (2/9) et une hématurie (2/9). Ces observations nécropsiques ne sont pas en accord avec les données bibliographiques qui décrivent classiquement des pancréatites, des gastroentérites, des hémorragies pulmonaires et des hypersécrétions bronchiques et salivaires.

Le diagnostic toxicologique a utilisé une méthode de chromatographie sur couche mince à haute performance (HPTLC) sur le contenu gastrique. Toutes les molécules inhibitrices des cholinestérases sont recherchées. Trois molécules ont été mises en évidence : le carbofuran (6/9), l'aldicarbe (3/9) et le méthiocarb (1/9). Il s'agit des inhibiteurs des cholinestérases parmi les plus toxiques. A noter qu'un cas a été intoxiqué par une combinaison de carbofuran et d'aldicarbe, des molécules désormais interdites.

Tableau 22 - Cas de terrain d'intoxication aux inhibiteurs des cholinestérase confirmés par une analyse toxicologique et autopsiés.

Commémoratifs	Anamnèse	Autopsie	Echantillon	Analyse	Résultats LD < 1µg/g
Chien Croisé Adulte Femelle	Trouvé mort	- Muqueuses pâles - Absence de coagulation sanguine - Congestion marquée - Petits granules noirs dans l'estomac - Contenu intestinal hémorragique avec desquamation de la muqueuse	CG	HPTLC	Aldicarbe 88,63 µg/g
Chat Européen Adulte Mâle	Trouvé mort	- Hématémèse - Congestion foie et reins - Granulés bleus – noirs dans l'estomac - inflammation de la muqueuse colique - Absence de coagulation du sang cardiaque	CG	HPTLC	Aldicarbe 114,5µg/g AVK => négatif
Chien Yorkshire 2 ans Femelle	Bradycardie, coma	- Muqueuses pâles - granulés noirs dans l'estomac	CG	HPTLC	Carbofuran 1,76µg/g Aldicarbe 18µg/g
Chien Doberman 5 ans Femelle	Crises convulsives, diarrhée et vomissements puis mort rapide.	- Muqueuses congestives et cyanosées - Forte congestion des viscères - Hématurie - Contenu stomacal bleuté - Contenu intestinal hémorragique - suffusions pulmonaires	CG	HPTLC	Carbofuran 77µg/g Chloralose, Métaldéhyde, organochloré, strychnine => négatif
Chat Européen 7 ans Mâle	Trouvé mort	- Suffusions thoraciques et endocardique - Congestion foie et reins - Suffusion hémorragique - Corps étranger dans la bronche droite *, - Emphysème multifocal modéré	CG	HPTLC	Carbofuran 102µg/g Chloralose => négatif
Chien Malinois 3 ans Mâle	Trouvé mort	- Epanchement abdominal séro-hémorragique	CG	HPTLC	Carbofuran 301µg/g

Chat Européen 2 ans Mâle	Trouvé mort	- Léger épanchement thoracique séro-hémorragique - Lésions ischémiques de la muqueuse gastrique	CG	HPTLC	Carbofuran 301µg/g Chloralose, organoschloré, strychnine, pyréthroïdes => négatif
Chien Anglo-français 2 ans Mâle	Trouvé mort	- Ecoulement nasal spumeux et rosé - Léger épanchement thoracique séro-hémorragique - Congestion et hypertrophie hépatique - Infarctus marqué sur le rein droit - Hématurie - Congestion de la séreuse de l'intestin - œdème pulmonaire marqué, - Emphysème	CG	HPTLC	Carbofuran 16,57µg/g
Chien Croisé Adulte Mâle	Trouvé mort	- Muqueuses hémorragiques - Epanchement abdominal séro-hémorragique - Absence de coagulation - Congestion des reins, du péricarde, du myocarde et des poumons - Hématurie - Inflammation de la muqueuse intestinale - Contenu digestif de coloration bleue	CG	HPTLC	Méthiocarbe 282 µg/g Métaldéhyde => négatif

Légende : CG = contenu gastrique ; HPTLC = High Performance Thin Layer Chromatography ; LD = limite de détection ; AVK = rodenticides anticoagulants anti-vitamine K

* Sur ce cas, les lésions n'étaient pas expliquées par la présence du corps étranger bronchique qui semblait récent, c'est pourquoi une analyse toxicologique a été demandée. Les doses de Carbofuran trouvées peuvent expliquer le décès. Une hypothèse serait que la présence du corps étranger soit secondaire aux crises convulsives et à l'agonie de l'animal.

II.2.3.4 - Lindane

1) Présentation

Les organochlorés sont utilisés comme insecticides sous forme de produits phytosanitaires ou comme traitement antiparasitaire. Du fait de leur rémanence, de leur toxicité et de l'apparition d'insectes résistants, la majorité des organochlorés, y compris le lindane, sont interdits en France dans leur utilisation agricole (Ensley 2012). Le lindane est le nom donné aux produits contenant au moins 99% de l'isomère gamma de l'hexachlorocyclohexane (HCH). Il s'agit du seul isomère insecticide (Marteau 1995). Relativement moins toxiques pour les mammifères et moins rémanent, le lindane a été utilisé dans le traitement des sols agricoles et des semences, dans le traitement du bois et dans le domaine vétérinaire comme antiparasitaire.

**** Propriétés physico chimiques***

Les organochlorés sont des molécules très rémanentes et très lipophiles qui s'accumulent donc préférentiellement dans le système nerveux central et le tissu adipeux (Ensley 2012). Par sa nature chimique et ses propriétés biologiques, le lindane occupe une place à part parmi les organochlorés. Il se présente sous forme d'un solide cristallin blanc inodore et présente une bonne stabilité à l'air, la lumière et la chaleur. Cependant il est altéré par les milieux basiques et certains métaux capables de s'ioniser (Marteau 1995). Bien que faible, sa solubilité dans l'eau est supérieure aux autres organochlorés.

**** Pharmacocinétique***

Par leur liposolubilité importante, les organochlorés sont facilement absorbés en plus ou moins grande proportion selon les surfaces. L'intégrité de la muqueuse gastrique ou la présence de matière grasse dans l'estomac sont des facteurs influant la cinétique d'absorption. Les organochlorés se lient avec les lipoprotéines sériques, puis ils sont distribués dans le foie, les reins et l'encéphale et stockés dans le tissu adipeux. Ils sont ensuite transformés en dérivés hydroxylés ou époxydes stables. Les métabolites sont éliminés par la bile et les urines. Un cycle entéro-hépatique est donc possible (Marteau 1995).

* Mécanisme toxique

Les organochlorés sont des antagonistes non compétitifs agissant sur le canal d'ion chlorure du récepteur GABA (acide gamma-aminobutyrique) (Ensley 2012). Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur. En cas d'intoxication, les récepteurs GABA ne jouent pas leur rôle d'inhibiteur du relargage des neurotransmetteurs excitateurs.

D'autre part, les flux ioniques de potassium, de calcium et de sodium sont altérés au niveau de l'encéphale et des nerfs périphériques, ce qui résulte en une dépolarisation neuronale prématurée (Ensley 2012).

* Exposition

L'exposition des carnivores domestiques est le plus souvent accidentelle suite à la consommation d'antiparasitaires ou de produits phytosanitaires (Ensley 2012).

* Dose toxique

Tableau 23 - Dose létale 50 orale du lindane chez le chien et le chat (Ensley 2012).

Molécule	DL50 per os chez le chien	DL50 per os chez le chat	DL50 percutanée chez le chien
Lindane	30 – 200 mg/kg	35 mg/kg	330 – 550 mg/kg

* Signes cliniques

Les signes cliniques apparaissent de quelques minutes à quelques jours après l'ingestion. Lors d'intoxication aiguë, on note des signes neuro-musculaires : fasciculation des muscles faciaux, masséters et cervicaux, hyperesthésie, convulsions cloniques et toniques avec parfois un opisthotonos. Une hypersalivation modérée est souvent associée à des mâchonnements. L'évolution se fait vers le coma et la mort. Les signes sont souvent prolongés de 24 heures à une semaine en raison d'un relargage progressif depuis la masse grasseuse. Chez le chat, un syndrome « en hypo » est souvent observé. Une intoxication chronique se présente sous la forme de signes neurologiques atténués (tremblements, ataxie, dépression) et une anorexie (Marteau 1995).

2) Lésions

Les lésions ne sont pas spécifiques, on retrouve une congestion généralisée, parfois une cyanose. Une dégénérescence et nécrose du foie et des tubules rénaux ont été décrits, en particulier lors d'exposition chronique (Raisbeck 2006). Un œdème pulmonaire a été rapporté chez l'homme. De petites hémorragies, en particulier sur le péricarde et l'endocarde mais aussi pulmonaires sont décrites. Le système nerveux central est souvent oedématié avec un excès de liquide cérébro-spinal. Des lésions de gastro-entérites peuvent également apparaître (Marteau 1995).

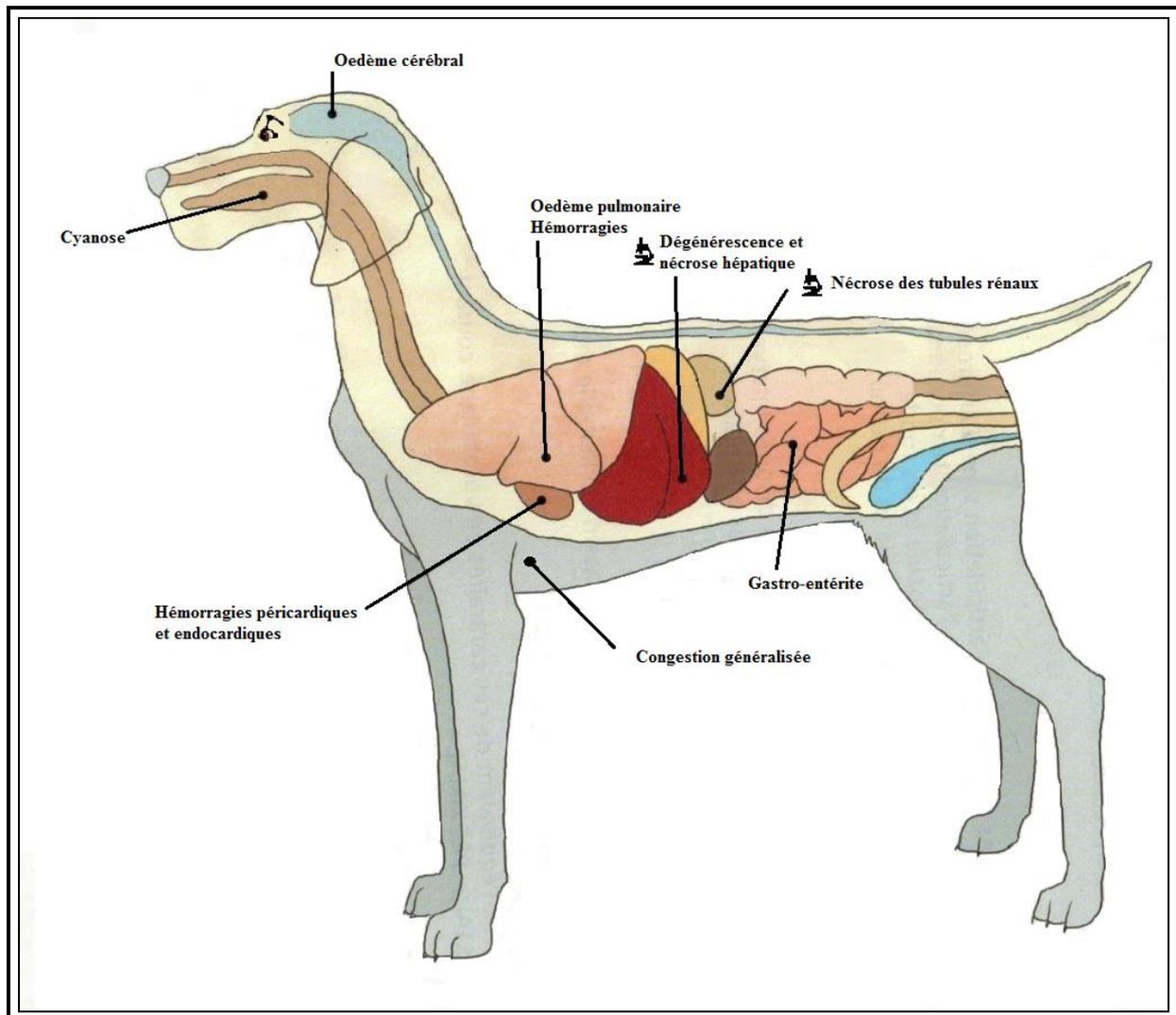


Figure 26 - Lésions macroscopiques et microscopiques induites par le lindane chez les carnivores domestiques.

3) *Diagnostic de certitude*

Le diagnostic de certitude se fait sur le contenu gastrique, les appâts, le foie et l'encéphale, éventuellement sur la graisse et les reins par CPG-ECD (seuil de détection 0,01 mg/kg) (Marteau 1995).

4) *Illustrations par des cas de terrain*

Un seul cas d'intoxication aux organochlorés a été rapporté, confirmé et autopsié, depuis 2008. Il s'agit d'une intoxication au Lindane. Le tableau nécropsique montre des lésions à nouveau peu spécifiques (congestion, cyanose, pétéchies) mais plutôt en accord avec les données bibliographiques. L'analyse a été effectuée sur le contenu gastrique.

Tableau 24 - Cas de terrain d'intoxication au lindane confirmés par une analyse toxicologique et autopsiés.

Commémoratifs	Anamnèse	Autopsie	Echantillon	Analyse	Résultats LD < 1µg/g
Chien Dogue Allemand 2 ans Mâle	Trouvé mort	- Congestion généralisée - Cyanose des muqueuses - Pétéchies linguales	CG	GC-ECD	Lindane 231 µg/g IDC, Métaldéhyde, Strychnine, Crimidine, Chloralose => négatif

Légende : CG = contenu gastrique ; GC-ECD = Gas Chromatography – Electron Capture Detector ; LD = Limite de détection ; IDC = Inhibiteur des cholinestérases

Conclusion

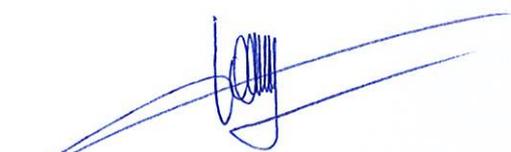
Face à la perte brutale et inexplicée de leur compagnon canin ou félin, les propriétaires se retournent vers leur vétérinaire pour obtenir des réponses. La possibilité d'une intoxication ne doit pas être négligée face au nombre important de toxiques potentiels auxquels les animaux de compagnie sont exposés et à la grande variété de signes cliniques provoqués. Cependant il ne faut pas non plus surestimer l'implication des toxiques dans les morts subites. Le diagnostic ne doit pas se limiter aux seules intoxications et un diagnostic nécropsique rigoureux doit permettre d'écarter d'autres causes de mortalité. Par la suite, le diagnostic post-mortem des intoxications chez les carnivores domestiques reste un challenge pour le praticien. Notre étude a mis en évidence que seulement quelques toxiques conduisent à un tableau nécropsique caractéristique alors que des centaines de substances peuvent potentiellement intoxiquer les animaux. Les intoxications par les rodenticides anticoagulants sont toujours concomitantes de lésions très évocatrices. Au contraire la plupart des toxiques présentent des lésions frustes, non spécifiques et variables : congestions diversement localisées (inhibiteurs des cholinestérases, chloralose, strychnine, lindane), cyanose généralisée (strychnine, lindane), pâleur des muqueuses (chloralose). Le praticien s'appuie sur l'épidémiologie et la clinique pour orienter sa suspicion, cependant, ces informations sont parfois inconnues ou frustes. Il est du devoir du praticien de maîtriser les modalités de prélèvements toxicologiques lors de l'examen nécropsique. Ainsi, en concertation avec le laboratoire, les analyses toxicologiques adaptées pourront être mis en œuvre sur la base des données épidémiologiques, cliniques et nécropsiques. Cependant, encore de nombreux décès inexplicés ne passent pas par une recherche toxicologique : les propriétaires découragés par l'éventail des toxiques possibles et le prix, ne sont pas toujours encouragés par les praticiens qui sont pessimistes quant à l'obtention d'un résultat positif. Une autopsie rigoureuse, des prélèvements adaptés et une recherche orientée contribuent à augmenter les chances d'établir un diagnostic. Malgré le peu de lésions spécifiques d'un toxique, l'autopsie complète et rigoureuse est indispensable d'une part pour éliminer les causes non toxiques de mortalité, d'autre part pour orienter la recherche toxicologique. Encore trop peu de praticiens joignent les résultats de l'examen nécropsique à leur demande d'analyses toxicologiques. Le reste du travail incombe aux laboratoires pour lesquels la recherche des toxiques devient de plus en plus large quant à la nature des toxiques et précise quant à leur seuil de détection.

Le diagnostic post-mortem des intoxications chez les carnivores domestiques se distingue par son caractère individuel avec peu de répercussions économiques mais un attachement affectif non négligeable. La même démarche s'applique avec les animaux de rente pour lesquels les intoxications peuvent concerner plusieurs animaux avec des répercussions économiques importantes et pour lesquels il est primordial d'éviter une nouvelle intoxication. De même cette démarche est d'autant plus importante dans le cadre de la surveillance sanitaire de la faune sauvage, que les commémoratifs sont inexistantes.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **Martine KOLF-CLAUW**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **GOUBE Anaïs** intitulée « *Diagnostic post-mortem des intoxications chez les carnivores domestiques-intérêt et limites de l'autopsie. Etude de 23 cas d'intoxication.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.


Fait à Toulouse, le 2 novembre 2015
Professeure Martine KOLF-CLAUW
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Christian VIRENQUE


SAMU 31
Professeur Ch. VIRENQUE
Hôpital PURPAN
TSA 40031
31059 TOULOUSE C

Vu et autorisation de l'impression :
Administrateur Provisoire de
l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Amal SAYAH

L'Administrateur Provisoire


Amal SAYAH



Mlle GOUBE Anaïs
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014
a validé son année d'approfondissement le : 26/06/2015

Bibliographie

AFMES, 2012. *Armed Forces Medical Examiner System : Guidelines for the collection and shipment of specimens for toxicological analysis*. [en ligne]. 2012. [Consulté le 29 septembre 2014]. Disponible à l'adresse : <http://www.afmes.mil/assets/docs/toxguidelines.pdf>.

BARBIER, Nicolas, 2005. *Bilan d'activité du Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires pour l'année 2003*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

BATES, L, 2012. Microscopic analysis of toxic substances in feeds and ingesta. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 1350-1357.

BATES, N et CAMPBELL, A, 2000. Organophosphate insecticides. In : CAMPBELL, A et CHAPMAN, M, *Handbook of poisoning in dogs and cats*. Oxford : Blackwell science. pp. 199-204.

BATES, N, 2000. Carbamate insecticides. In : CAMPBELL, A et CHAPMAN, M, *Handbook of poisoning in dogs and cats*. Oxford : Blackwell science. pp. 101-105.

BAUDRY, E, 2001. *Les intoxications domestiques du chat*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

BELLAICHE, D, 1957. *Contribution à l'établissement du diagnostic nécropsique chez les carnivores domestiques*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Toulouse : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

BERNY, P, BURONFOSSE, T et LORGUE, G, 1995. Anticoagulant poisoning in animals : a simple new high-performance thin-layer chromatographic (HPTLC) method for the simultaneous determination of eight anticoagulant rodenticides in liver samples. *Journal of analytical toxicology*. 1995. Vol. 19, pp. 35.

BERNY, P, CALONI, F, CROUBELS, S, SACHANA, M, VANDENBROUCKE, V, DAVANZO, F et GUITART, R, 2010. Animal poisoning in Europe. Part 2: Companion animals. *The Veterinary Journal*. mars 2010. Vol. 183, n° 3, pp. 255-259.

BERNY, P et QUEFFELEC, S, 2014. *Guide pratique de toxicologie clinique vétérinaire*. Paris : Med'Com.

BERNY, P, 2003. *Bilan annuel du laboratoire de toxicologie*. 2003. Unité de toxicologie, école nationale vétérinaire de Lyon. 35p.

BLODGETT, D, 2006. Organophosphate and carbamate insecticides. In : PETERSON, M et TALCOTT, P, *Small animal toxicology*. 2nd edition. St Louis : Elsevier Saunders. pp. 941-955.

BOUMBA, Vassiliki et VOUGIOUKLAKIS, Theodore, 2005. Evaluation of the Methods Used for Carboxyhemoglobin Analysis in Post-mortem Blood. *International Journal of Toxicology*. 1 juillet 2005. Vol. 24, n° 4, pp. 275-281.

BRAU, S et CASSALEUX, G, 2004. Comment réaliser une autopsie chez le chiot et le chaton. *Le nouveau praticien vétérinaire*. mai 2004. N° 17, pp. 121-125.

CABANIE, P et SCHELCHER, F, 1998. Autopsie, diagnostic nécropsique, rédaction du rapport d'autopsie. In : *IVème ateliers d'autopsie de l'Allier*. Le Donjon. 1998. pp. 2-16.

CALONI, F, 2012. Epidemiology of animal poisoning in Europe. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 88-97.

CAUDE, M et JARDY, A, 1996. Méthodes chromatographiques. In : *Chromatographie et techniques séparatives*. Traité analyses et caractérisations des Techniques de l'ingénieur. 1996. pp. 1445.

CHOWDHARY, Sheemona, BHATTACHARYYA, Rajasri et BANERJEE, Dibyajyoti, 2014. Acute organophosphorus poisoning. *Clinica Chimica Acta*. avril 2014. Vol. 431, pp. 66-76.

C.N.I.T.V., 2007. Analyses effectuées au laboratoire de toxicologie. *Vetagro sup* [en ligne]. 2007. [Consulté le 20 mai 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www2.vetagro-sup.fr/serv/pdf/TarifsCompletsTox2007.pdf>

COLLÈGE FRANÇAIS DES PATHOLOGISTES, 2011. *Moyens et objectifs de l'anatomie pathologique en médecine*. 2011. Université de Nantes. Polycopié. 442p.

CONTINI, Sandro, 2013. Caustic injury of the upper gastrointestinal tract: A comprehensive review. *World Journal of Gastroenterology*. 2013. Vol. 19, n° 25, pp. 3918.

COOPER, J et COOPER, M, 1998. Future trends in forensic veterinary medicine. In : *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*. octobre 1998. pp. 210-217.

COOPER, J et COOPER, M, 2007. *Introduction to veterinary and comparative forensic medicine*. Oxford : Blackwell publishing.

COPE, R, 2012. Toxic gases. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 719-739.

CRESPEAU, F, 1992. L'autopsie : interprétation, rédaction du rapport nécropsique. In : GREPINET, A, *L'expertise des animaux morts*. Colloque de l'association française des vétérinaires experts. pp. 75-94.

DOBRE, I et SOARE, T, 2007. Observations regarding some histopathological aspects of bromadiolone baits poisoning in common breed dogs. *Lucrari stiintifice medicina veterinara*. 2007. Vol. XL, pp. 219-227.

DORIGNY, V, 2006. *Les principales intoxications responsables des atteintes cutanées chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Nantes : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

DOUAUD, S, 2008. *Intoxication des carnivores domestiques par les désinfectants*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Nantes : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.

- DRUMMER, O, 2007. Requirerments for bioanalytical procedures in post-mortem toxicology. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2007. N° 388, pp. 1495-1503.
- DUVALL, M, MURPHY, M, RAY, A et REAGOR, J, 1989. Case studies on second-generation anticoagulant rodenticide toxicities in nontarget species. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1989. N° 1, pp. 66-68.
- ENSLEY, S, 2012. Organochlorines. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 698-715.
- FALLON, A, BOOTH, R.F.G et BELL, L.D, 1987. *Applications of HPLC in biochemistry*. Amsterdam : Elsevier. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology.
- FISHER, D, BOWSKILL, S, SALIBA, L et FLANAGAN, R, 2013. Unintentional domestic non-fire related carbon monoxide poisoning : data from media reports, UK/Republic of Ireland 1986-2011. *Clinical Toxicology*. juin 2013. Vol. 5, n° 51, pp. 409-416.
- GAENSSLEN, R, 2001. Informatics and scientific information exchange in forensic toxicology. *Journal of analytical toxicology*. 2001. Vol. 25, pp. 386-389.
- GOUNARI, A, 2006. *Principales intoxications du chien dans les jardins*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Toulouse : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- GREPINET, A, 1993. *L'expertise des animaux morts*. Colloque de l'association française des vétérinaires experts. Congrès Lyon. 117p.
- GRUCKER, S, 2004. *Toxicité rénale des AINS, de l'éthylène glycol et des végétaux chez les carnivores domestiques*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- GUPTA, R et MILATOVIC, D, 2012. Organophosphates and carbamates. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 586-590.
- GUPTA, R, 2012. Non-anticoagulant rodenticides. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 698-715.
- JAQUIN, C, 2001. *Intoxications des carnivores domestiques : bilan du laboratoire d'analyses toxicologiques de l'école nationale vétérinaire de Lyon (1994-1999)*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- JOSEPH, E, 1993. *Toxicologie de l'éthylène-glycol et études des cas rapportés au C.N.I.T.V.* Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Toulouse : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- KARCH, S, 2001. Alternate strategies for post-mortem drug testing. *Journal of analytical toxicology*. juillet 2001. Vol. 25, pp. 393-395.

- KECK, G, 1999. Le recours au laboratoire de toxicologie. In : *L'expertise vétérinaire, enseignement postuniversitaire*. Association française des Vétérinaires praticiens de l'Expertise. 1999. pp. 10-1 - 10-12.
- KENT, M, CREEVY, K et DELAHUNTA, A, 2010. Clinical and neuropathological findings of acute carbon monoxide toxicity in chihuahuas following smoke inhalation. *Journal of the American Animal Hospital Association*. août 2010. Vol. 46, pp. 259-264.
- KING, J.M., ROTH-JOHNSON, L, DODD, D.C. et NEWSOM, M.E., 2014. *The necropsy book : a guide for veterinary students, residents, clinicians, pathologists, and biological researchers*. 7th Ed. Cornell University.
- KOURAICHI, N., BRAHMI, N., ELGHORD, H., BÉJI, O., THABET, H. et AMAMOU, M., 2010. Intoxication par le chloralose : facteurs pronostiques et prise en charge. *Réanimation*. octobre 2010. Vol. 19, n° 6, pp. 581-586.
- LE NEPVOU, F, 2004. *Intoxication des carnivores domestiques par les produits ménagers*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Nantes : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.
- LORGUE, G, LECHENET, J et RIVIÈRE, A, 1987. *Précis de toxicologie clinique vétérinaire*. Maisons-Alfort : Editions du point vétérinaire.
- LORGUE, G, 1992. Conduite à tenir en cas de morts suspectes. In : GREPINET, A, *L'expertise des animaux morts*. Colloque de l'association française des vétérinaires experts. pp. 65-74. Congrès Lyon
- LUGINBÜHL, H. et DETWEILER, D.K., 1965. Cardiovascular lesions in dogs. *Annals of the New York Academy of Sciences*. septembre 1965. Vol. 127, pp. 517-540.
- MAILLAND, V, 2011. *Les intoxications majeures du chat d'après les données du C.N.I.T.V de Lyon 2008-2009*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Toulouse : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- MARTEAU, V, 1995. *Intoxications des carnivores domestiques par le lindane pesticide : étude clinique et épidémiologique d'après les données du CNITV de 1991 à 1993*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- MEYER, M, 2014. Trends in analysing emerging drugs of abuse – from seized samples to body samples. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2014. N° 406, pp. 6105-6110.
- MOLLE-PROUDHON, B, 2011. *Apport de l'histopathologie au diagnostic de mortalité néonatale et pédiatrique chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Maisons-Alfort : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- MUNRO, R et MUNRO, H, 2008. Poisoning. In : MUNRO, H et MUNRO, R, *Animal abuse and unlawful killing – forensic veterinary pathology*. Edinburgh, London, New York : Elsevier Saunders. pp. 106.
- MURPHY, Michael, 2002. Rodenticides. *Vet Clin Small Anim*. 2002. Vol. 32, pp. 469-484.

- MURPHY, M, 2012. Anticoagulant rodenticides. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press.
- OSBORNE, C.A. et STEVENS, J.B., 2001. *Analyses urinaires : guide clinique*. Ed Française. Leverkusen : Bayer ag.
- OSMAN, Mohammad, RUSSELL, Janice, SHUKLA, Deepty, MOGHADAMFALAH, Mana et GRANGER, D. Neil, 2008. Responses of the murine esophageal microcirculation to acute exposure to alkali, acid, or hypochlorite. *Journal of Pediatric Surgery*. septembre 2008. Vol. 43, n° 9, pp. 1672-1678.
- PALMER, Robert B., ALAKIJA, Pauline, CDE BACA, John E. et NOLTE, Kurt B., 1999. Fatal Brodifacoum Rodenticide Poisoning: Autopsy and Toxicologic Findings. *Journal of Forensic Sciences*. 1 juillet 1999. Vol. 44, n° 4, pp. 14566J.
- PASCA, S, SOLCAN, G, SINDILAR, E et LAZAR, M, 2012. Clinical and morphopathological aspects in anti-freeze intoxication of dogs. *Veterinary medicine*. 2012. Vol. 58, n° 4, pp. 288-296. Scientific works - University of Agronomical Sciences and Veterinary Medicine, Bucharest Series C.
- PENNEY, D, 1990. Acute carbon monoxide poisoning: animal models : a review. *Toxicology*. 1990. N° 62, pp. 123-160.
- PEPIN, G., DEVEAUX, M., GOULLE, J. P., KINTZ, P. et MARQUET, P., 1998. Les prélèvements d'autopsie nécessaires à la bonne exécution des expertises toxicologiques. *Toxicorama*. 1998. Vol. 10, pp. 110-19.
- PEPIN, G., 2006. *Les prélèvements d'autopsie nécessaires à la bonne exécution des expertises toxicologiques*. [en ligne]. 2006. Société Française de Toxicologie Analytique. [Consulté le 15 juin 2015]. Disponible à l'adresse : http://sfta.org/presentation/main/main_accueil.php
- PETTERINO, C, BIANCIARDI, P et GASTONE, T, 2004. Clinical reports : clinical and pathological features of anticoagulant rodenticide intoxications in dogs. *Veterinary and human toxicology*. 2004. Vol. 2, n° 46, pp. 70-75.
- PINEAU, X, 1999. *Approche épidémiologique des intoxications des chiens et chats. Etude de 40 000 dossiers enregistrés au Centre National d'Informations Toxicologiques Vétérinaires de Lyon de 1991 à 1997*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- POOLE, C.F., 2015. Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of chromatography*. février 2015.
- PORTER, W, 2012. Ethylene glycol poisoning: quintessential clinical toxicology; analytical conundrum. *Clinica chimica acta*. 2012. N° 413, pp. 365-377.
- POULIQUEN, H, 2002. Intoxication aux convulsivants chez le chien et le chat. *Le point vétérinaire*. mai 2002. N° 225.

- PRICE, Paul A., FAUS, Samuel A. et WILLIAMSON, Matthew K., 2000. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000. Vol. 20, n° 2, pp. 317–327.
- PUBCHEM, 2015. *The PubChem project* [en ligne]. 2015. [Consulté le 6 décembre 2015]. Disponible à l'adresse : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>
- RADI, Z et THOMPSON, L, 2004. Renal subcapsular hematoma associated with brodifacoum toxicosis in a dog. *Veterinary and human toxicology*. avril 2004. Vol. 2, n° 46, pp. 83-84.
- RAISBECK, M, 2006. Organochlorine pesticides. In : PETERSON, M et TALCOTT, P, *Small animal toxicology*. 2nd edition. St Louis : Elsevier Saunders. pp. 934-940.
- RAYMOND-LETRON, I, 2005. Pratique de l'autopsie des carnivores. In : *L'expertise vétérinaire, enseignement postuniversitaire*. Association française des Vétérinaires praticiens de l'Expertise. 2005.
- RAYMOND-LETRON, I, 2013. Techniques de description des observations macroscopiques et de formulation d'un diagnostic lésionnel. . Cours magistraux. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 2013.
- RECH, J, 2011. *Microscopie des plantes consommées par les animaux*. Versailles : Quae.
- REYERS, F et NAUDE, T.W., 2012. Oxalate-containing plants. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 1128-1139.
- RIETJENS, S. J., DE LANGE, D. W., MEULENBELT, J. et OTHERS, 2014. Ethylene glycol or methanol intoxication: which antidote should be used, fomepizole or ethanol. *Neth J Med*. 2014. Vol. 72, n° 2, pp. 73–9.
- ROCH, M, 2008. *Intoxication par les rodenticides anticoagulants chez les animaux*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Lyon : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- RODERIQUE, Joseph D., JOSEF, Christopher S., FELDMAN, Michael J. et SPIESS, Bruce D., 2015. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. *Toxicology*. août 2015. Vol. 334, pp. 45-58.
- RUSSO, R, RESTUCCI, B et SEVERINO, L, 2013. Recent trends in diagnosing poisoning in domestic animals. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 2013. Vol. 2, n° 23, pp. 657-665.
- SEGEV, Gilad, YAS-NATAN, Einat, SHLOSBERG, Alan et AROCH, Itamar, 2006. Alpha-chloralose poisoning in dogs and cats: A retrospective study of 33 canine and 13 feline confirmed cases. *The Veterinary Journal*. juillet 2006. Vol. 172, n° 1, pp. 109-113.
- SHADNIA, S, 2004. A case of acute strychnine poisoning. *Veterinary and human toxicology*. avril 2004. Vol. 2, n° 46, pp. 76-79.

SMITH, B, ANDERSON, B, SMITH, S et CHEW, D, 1990. Early effects of ethylene glycol on the ultrastructure of the renal cortex in dogs. *American Journal of Veterinary Research*. janvier 1990. Vol. 1, n° 51, pp. 89-96.

SMITH, M, VORCE, S, HOLLER, J, SHIMOMURA, E, MAGLUILO, J, JACOBS, A et HUESTIS, M, 2007. Modern instrumental methods in forensic toxicology. *Journal of analytical toxicology*. juin 2007. Vol. 31, pp. 237-253.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE TOXICOLOGIE ANALYTIQUE, 2006. *Fiche toxicologie médicale Tox. 140 – monoxyde de carbone* [en ligne]. 2006. [Consulté le 15 juin 2015]. Disponible à l'adresse : http://sfta.org/presentation/main/main_accueil.php

TALCOTT, P, 2006. Strychnine. In : *Small animal toxicology*. 2nd edition. St Louis : Elsevier Saunders. pp. 1076-1082.

THRALL, M et HAMAR, D, 2012. Alcohols and glycols. In : GUPTA, R, *Veterinary toxicology : basic and clinical principles*. 2nd edition. Amsterdam, Boston, Heidelberg : Elsevier / Academic Press. pp. 735-744.

VALCHEV, I, BINEV, R, YORDANOVA, V et NIKOLOV, Y, 2008. Anticoagulant rodenticide intoxication in animals – a review. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2008. Vol. 4, n° 32, pp. 237-243.

VIALA, A, 1998. *Eléments de toxicologie*. Paris : Tec & Doc Lavoisier.

VOLMER, P.A. et MEERDINK, G.L., 2002. Diagnostic toxicology for the small animal practitioner. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. mars 2002. Vol. 2, n° 32, pp. 357-365.

WHYMAN, J, 2012. Principles and procedures in forensic toxicology. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2012. N° 32, pp. 493-507.

YANES-SEDENO, P, AGÜI, L, VILLALONGA, R et PINGARRON, J.M., 2014. Biosensors in forensic analysis. A review. *Analytica Chimica Acta*. 2014. N° 823, pp. 1-19.

NOM : GOUBE

Prénom : Anaïs

TITRE : Diagnostic post-mortem des intoxications chez les carnivores domestiques : intérêts et limites de l'autopsie. Etude de 23 cas d'intoxications.

RESUME :

Le diagnostic des intoxications chez les carnivores domestiques repose sur la confrontation d'éléments épidémiologiques, cliniques, nécropsiques et analytiques après exclusion d'autres étiologies. Une autopsie rigoureuse et méthodique suivie d'une description lésionnelle est essentielle et à portée de tout praticien qui choisit alors les prélèvements pertinents pour l'analyse toxicologique. Basée sur des données épidémiologiques et l'étude de 23 cas recueillis auprès des ENV, cette thèse présente, pour huit toxiques majeurs, les lésions et les prélèvements nécessaires à une confirmation analytique. Quatre toxiques (rodenticides anticoagulants, monoxyde de carbone, caustiques, éthylène glycol) provoquent des lésions assez évocatrices pour affiner le diagnostic nécropsique. Les autres toxiques avec une autopsie documentée dans l'étude de cas (strychnine, chloralose, inhibiteurs des cholinestérases, lindane) induisent des lésions frustes, non spécifiques et pas toujours corrélées avec les données bibliographiques. Cette étude analyse et illustre les apports essentiels de l'autopsie en toxicologie clinique mais confirme le faible nombre de tableaux nécropsiques typiques.

MOTS-CLES : diagnostic, toxicologie, lésion, autopsie, carnivores, chien, chat, raticides anticoagulants, monoxyde de carbone, caustiques, éthylène glycol, strychnine, chloralose, inhibiteurs des cholinestérases, lindane.

TITLE: Post mortem diagnosis of poisoning in domestic carnivores: relevance and limitation of post mortem exams. A study of 23 cases of poisoning.

ABSTRACT:

Poisoning diagnosis in domestic carnivores is based on epidemiological, clinical, post mortem and laboratory evidences and the ruling out of other causes. The most important point is a methodical and rigorous necropsy followed by the exhaustive description of lesions. Any general practitioner is entitled and competent enough to perform such a necropsy. The veterinarian has to choose the relevant samples for toxicological analysis. This thesis is based on epidemiological data and the study of 23 cases collected in the French veterinary schools. It proposes a description of eight major toxic agents, the lesions they provoke and the samples required in order to obtain analytic confirmation. Four poisons (anticoagulant rodenticides, carbon monoxide, caustics, ethylene glycol) induce lesions suggestive enough to sharpen the post mortem diagnosis. The others toxic agents, presented in the documented post mortem report available in the case study (strychnine, chloralose, cholinesterase inhibitors, lindane), cause discreet and unspecific lesions which are not always in accordance with bibliographic data. This study shows the relevance of a post mortem examination, but also confirms that specific post-mortem pictures are few in clinical toxicology.

KEYWORDS: diagnosis, toxicology, lesion, autopsy, carnivores, dog, cat, anticoagulant rodenticides, carbon monoxide, caustics, ethylene glycol, strychnine, chloralose, cholinesterase inhibitors, lindane.