

Intoxication au Brodifacoum

[Poisoning by Brodifacoum]

Wafa Masri¹, Ines Belwaer¹, Nozha Brahm², Abderrazak Hedhili¹, and Mouldi Amamou²

¹Laboratoire de toxicologie,
Centre d'Assistance Médicale Urgente, 10, rue aboukacem chebbi Montfleury 1008, Tunisia

²Service de Réanimation Médicale,
Centre d'Assistance Médicale Urgente, 10, rue aboukacem chebbi Montfleury 1008, Tunisia

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Anticoagulants are widely used pesticides in agriculture against rodents. The emergence of strains of rats resistant to warfarin led to the introduction of a new group of anticoagulant rodenticides: derivatives of 4-hydroxycoumarin (Brodifacoum, Bromadiolone, Difenacoum ...). The deliberate ingestion of large quantities of these products known by their long duration of action causes a disruption of several weeks to several months of hemostasis.

CASE REPORT: 20 year old comes to the emergency CAMU with a tremor and coma, requiring intubation and its implementation under mechanical ventilation. At 24 h after awakening, we note the presence of hematuria associated with a collapse of prothrombin (16%), prolonged partial thromboplastin time kaolin (T/M: 30s/50s), a collapse of fibrinogen (1.2 g/l) with a reduction factor of the Vitamin K dependent clotting II, VII, IX and X. The toxicological analysis of patient urine by HPLC shows the presence of brodifacoum

CONCLUSION: Brodifacoum poisoning is relatively serious. Research and dosage of anti-vitamin K anticoagulants by HPLC with diode array detector, must be requested before any disturbance of hemostasis of undetermined origin. Treatment with vitamin K should be installed early in effective dose from the decreased prothrombin and must be prolonged.

KEYWORDS: poisoning, coumarins, brodifacoum.

RESUME: Les rodenticides anticoagulants sont largement utilisés en agriculture. L'émergence de souches de rats résistantes à la warfarine a conduit à l'introduction d'un nouveau groupe d'anticoagulant rodenticides : les dérivés de la 4-hydroxycoumarins (Brodifacoum, Bromadiolone, Difenacoum...). L'ingestion intentionnelle de grande quantité de ces produits connus pour leur longue durée d'action, cause une perturbation de plusieurs semaines à plusieurs mois de l'hémostase.

OBSERVATION: Un jeune de 20 ans est adressé aux urgences dans le coma avec des trémulations, nécessitant son intubation et sa mise sous ventilation mécanique. Au réveil 24 h après, on note la présence d'une hématurie associée à un effondrement du taux de prothrombine (16%), un allongement du temps cephaline kaolin (T/M: 30s/50s), un effondrement du taux de fibrinogène (1,2 g/l) avec une diminution des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants II, VII, IX et X. L'analyse toxicologique des urines du patient par HPLC montre la présence du brodifacoum.

CONCLUSION: L'intoxication par le brodifacoum est relativement grave. La recherche et le dosage des anticoagulants anti-vitamine K, par HPLC avec détecteur à barrettes de diode, doivent être demandés devant toute perturbation de l'hémostase d'origine indéterminée. Le traitement par vitamine K doit être instauré précocement, à dose efficace, dès la constatation d'une diminution du TP et de manière prolongée.

MOTS-CLEFS: Coumarinique, intoxication, Brodifacoum.

1 INTRODUCTION

Les rodenticides anticoagulants sont largement utilisés en agriculture contre les rongeurs. L'émergence de souches de rats résistantes à la warfarine a conduit à l'introduction d'un nouveau groupe d'anticoagulant rodenticides : les dérivés de la 4-hydroxycoumarins (Brodifacoum, Bromadiolone, Difenacoum...). Le premier rapport publié d'utilisation Brodifacoum était à 1975 [1], [2].

Le Brodifacoum, comme tous les hydroxycoumarines, inhibe la réduction de la vitamine K 2,3-époxyde en sa forme active en inactivant les enzymes 2,3 vitamine K époxyde-réductase et de la vitamine K quinone réductase [3].

La vitamine K est un cofacteur dans la synthèse des facteurs de coagulation II, VII, IX et X. Ainsi, l'inhibition de la réduction de la vitamine K 2,3-époxyde diminue la production des facteurs de coagulation dépendant de la vitamine K et conduit à une perturbation de l'hémostase.

L'effet anticoagulant du brodifacoum est 100 fois plus puissant que la warfarine en raison de sa forte liposolubilité et de sa concentration sélective dans le foie [2], [4].

L'ingestion intentionnelle d'une grande quantité de ces produits ayant une longue durée d'action cause une perturbation de l'hémostase pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois et des hémorragies [5], [6].

Le présent travail met l'accent sur un cas d'intoxication admis en réanimation suite à l'ingestion volontaire d'un coumarinique dont l'identification a été mise en évidence par la chromatographie liquide à haute performance avec détecteur à barrettes de diode, méthode mise au point et validée dans notre laboratoire.

2 CAS CLINIQUE

2-1 Un jeune homme de 20 ans sans antécédent pathologiques, est admis aux urgences pour intoxication volontaire par un pesticide. L'examen clinique montre un sujet comateux hypoxique avec score de Glasgow à 11, une tachycardie sinusale modérée, des pupilles en position intermédiaires et des trémulations généralisées, nécessitant son intubation et sa mise sous ventilation mécanique.

Sur le plan biologique on a noté une rhabdomyolyse (CPK : 540UI/L), une légère acidose lactique (lactate : 3mmol/l) avec un bilan hépatique et rénal correct. Au réveil 24h après, on note la présence d'une hématurie associé à un effondrement du taux de prothrombine (16%), un allongement du temps cephaline Kaolin (T/M : 30s/50s), un effondrement du taux de fibrinogène (1,2 g/l) avec une diminution des facteurs de la coagulation vitamine K dépendants II, VII, IX et X.

L'interrogatoire avec la famille du patient trouve la notion d'une prise d'un rodenticide.

2-2 L'analyse toxicologique qualitative des urines du patient montre une réaction faiblement positive du Fujiwara révélant la présence de chloralose en faible quantité mais par contre l'analyse par chromatographie sur couche mince et l'identification par chromatographie liquide à haute performance dont les conditions figure dans le *tableau1*, montre la présence d'un dérivé coumarinique : le Brodifacoum (*figure 1*).

La concentration de brodifacoum dans les urines après 24 heures d'admission était à 0,575 µg/ml.

L'analyse toxicologique par HPLC a été développée dans notre laboratoire pour la détection et quantification de brodifacoum en plasma et dans les urines. Après avoir ajouté du difenacoum en tant que étalon interne, ils sont extraits à partir de 2 mL de plasma ou urine acidifié par HCL avec deux séquentiels volumes de 10 ml d'éther éthylique-acétonitrile. Les extraits sont évaporés à sec sous atmosphère d'azote, 2 ml de méthanol est ajoutée afin de reconstituer les résidus. La méthode s'avère linéaire entre 0,5-15 µg/ml avec bonne répétabilité (CV : 1,14%) et reproductibilité (CV : 0,12 %). La limite de détection est de l'ordre 0,1 µg/ml.

Tableau 1. Les conditions chromatographiques HPLC

Paramètres	Description
Phase mobile	Méthanol- eau acidifiée à 2% [90% : 10% ; v/v]
Phase stationnaire	Colonne C18, Nucléosil : 250mmx4,6mm, 5µm
Débit	1 ml/min
Longueur d'onde	265 nm
Temps de retention	brodifacoum : 5,45 min

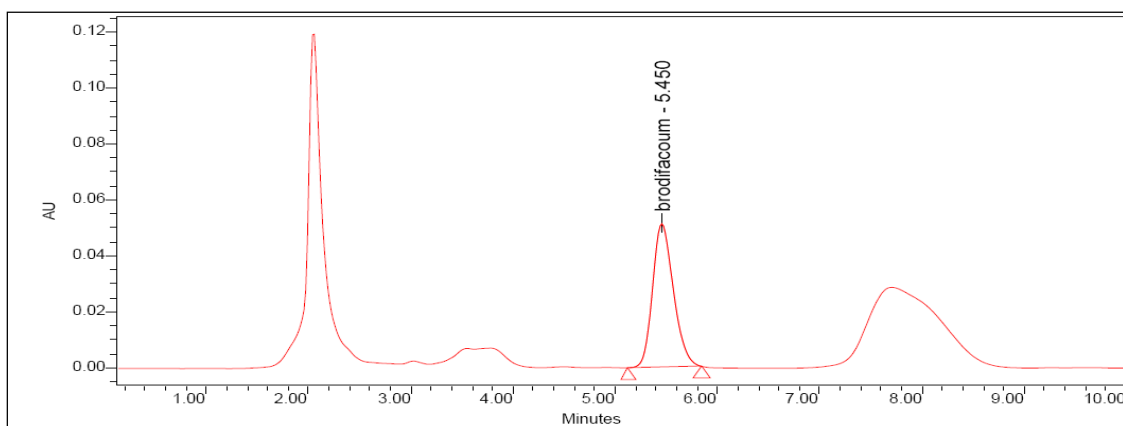


Fig. 1. Chromatogramme de l'intoxiqué

2-3 Le traitement a consisté à l'administration de vitamine K à raison de 30 mg/j et des PFC durant les trois premiers jours. Le TP alors se normalise à 60% au bout de trois jours mais il rechute à l'arrêt du traitement en 24 heures à 15% témoignant d'une résistance thérapeutique par un effet anticoagulant massif et prolongé des coumariniques.

L'évolution a été marquée par l'apparition d'un choc anaphylactique suite à l'injection de 10 mg de vit K par voie intraveineuse et sa poursuite par voie orale de 120 mg/j pendant 2 mois. Le suivis biologique a consisté en des dosages répétés et réguliers du TP et des facteurs vitamines K dépendants (figure 2). Une correction des facteurs de la coagulation (tableau 2) a été notée à partir de la quatrième semaine et restent stables tous au long de la surveillance. L'hospitalisation a été maintenue 30 jours à fin d'optimiser la prise en charge psychologique du patient. A l'arrêt du traitement, aucune récurrence hémorragique, clinique ni biologique, n'est survenue. L'évolution médicale a été satisfaisante.

Tableau 2. Evolution des facteurs de coagulation vitamine k dépendant (II, VII, IX, X)

Facteurs de coagulation	Jour 7	Jour 18	Jour 30	Valeurs normales
Facteur II	22%	70-120%	93%	24%
Facteur VII	3%	70-130%	57%	5%
Facteur IX	10%	60-150%	120%	9%
Facteur X	21%	70-120%	101%	20%
Facteur V	87%	70-120%	100%	90%

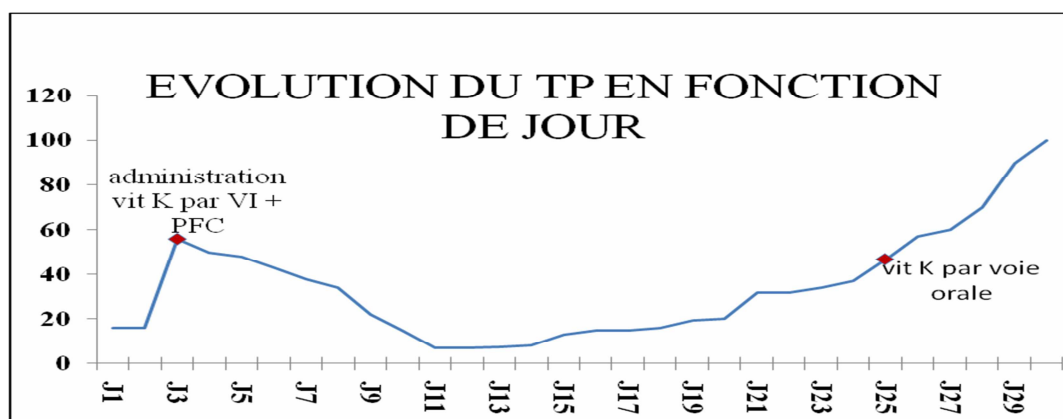


Fig. 2. Evolution du taux de prothrombine en fonction du temps

3 DISCUSSION

3-1 Les rodenticides sont incriminés en Tunisie dans les intoxications intentionnelles le plus souvent dans le contexte d'autolyse. En effet l'intoxication du jeune homme était volontaire suite à un conflit familial. Ces intoxications sont peu fréquentes et concernent principalement les zones rurales où la vente des produits n'est pas régit par un cadre réglementaire et sa fréquence d'utilisation en milieu agricole.

Un petit nombre d'intoxications volontaires sévères par les anticoagulants de seconde génération a été rapporté dans la littérature. Les détails de la pharmacocinétique et de la pharmacotoxicité, la durée de la toxicité la réponse aux traitements, ne sont donc pas bien documenté [7].

La voie d'intoxication était orale pour notre patient, le brodifacoum est lipophile et facilement absorbés par toutes les voies. La demi-vie plasmatique était estimée entre 16 et 36jours.

3-2 La majorité des signes cliniques observés chez le patient intoxiqué à l'admission (trémulation, tachycardie..) étaient causés par l'intoxication simultanée de l'alphachloralose en faible quantité avec le brodifacoum.

L'hyperactivité musculaire au cours des myoclonies a entraîné une rhabdomyolyse. Le gaz du sang artériel montre une hypoxémie secondaire à la dépression respiratoire et l'acidose métabolique lactique est liée à une accumulation d'acide lactique suite à l'anoxie cellulaire survenant au cours des myoclonies.

Par contre l'hématurie et les variations biologiques hématologiques étaient étroitement liés au mécanisme d'action du coumarinique. En effet le Brodifacoum est un antagoniste de la vitamine K, laquelle est un cofacteur indispensable à la synthèse des facteurs de coagulation vitamine K-dépendants : II, VII, IX, X. Au niveau hépatique, la vitamine K est réduite en vitamine K1 hydroquinone qui est ensuite oxydée en vitamine K1 époxyde par une carboxylase au cours d'une réaction couplée à une carboxylation des précurseurs des facteurs de coagulation. L'époxyde est ensuite très vite réduit en vitamine K par une époxyde réductase. La vitamine K, ainsi régénérée, peut à nouveau être réduite puis époxydée en un turn-over permanent qui assure la synthèse des facteurs de coagulation (figure 3). Ce cycle de réactions préserve un stock de vitamine K suffisant pour maintenir le taux de production de ces facteurs compatible avec une coagulation normale [8].

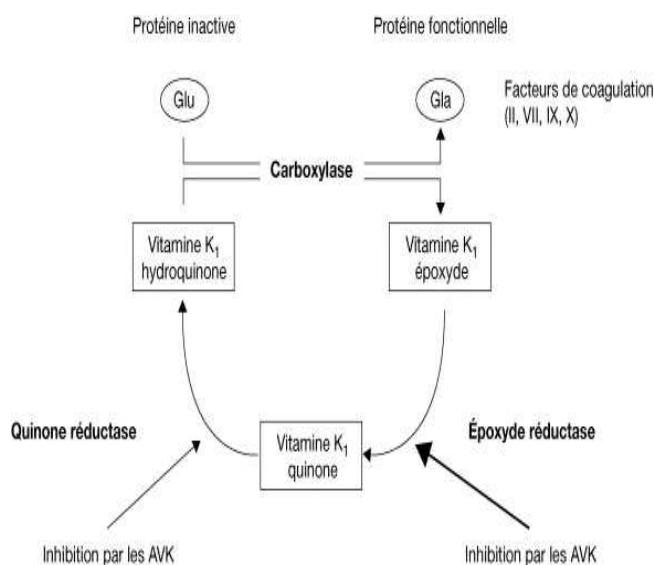


Fig. 3. cycle de la vitamine K et mode d'action du brodifacoum

La synthèse des facteurs de coagulation est dépendante de la conversion de la vitamine K1 hydroquinone en vitamine K1 époxyde, conversion faisant intervenir une carboxylase. C'est la carboxylation des résidus glutamiques en résidus gammacarboxyglutamiques des facteurs de coagulation II, VII, IX, X qui les rend biologiquement actifs. Le cycle de la vitamine K dépend des enzymes carboxylase, époxyde et quinone réductases. Les AVK, en bloquant ces deux dernières, empêchent la régénérescence de la vitamine K, notamment à partir de son époxyde [9], [10].

Les apports alimentaires en vitamine K sont alors insuffisants et la synthèse des facteurs de coagulation vitamine K-dépendants diminue ou même s'interrompt. Il en découle une hypocoagulabilité chez le patient qui apparaît dans les 24

heures et s'aggrave en 48 à 72 heures. Le risque de complication hémorragique peut alors être majeur sans prise en charge rapide [11].

3-3 Cliniquement, l'intoxication aux AVK est marquée essentiellement par l'activité anticoagulante de ceux-ci avec un risque hémorragique de localisation non spécifique. Il faut savoir penser à ce diagnostic devant tout saignement extériorisé ou dans un contexte clinique évocateur (cutané, digestif, intracrânien...) avec allongement du temps de Quick (TP).

Le TP permet de détecter la diminution des facteurs II, VII et X, mais ne mesure pas la chute du facteur IX. Comme c'est principalement le facteur VII qui chute (*tableau II*), le TP est le meilleur test de diagnostic rapide. En effet le diagnostic biologique des intoxications aux coumariniques était avant basé essentiellement sur la perturbation de l'hémostase. Dans notre cas l'analyse toxicologique des urines montrait initialement la présence d'alphachloralose qui n'expliquait pas les variations biologique et l'hémorragie ; l'analyse du plasma et des urines par HPLC nous a permis de bien connaître la nature du rodenticide et d'avoir une meilleure prise en charge.

Plusieurs méthodes d'analyse HPLC ont été décrites par la littérature pour la quantification du brodifacoum mais pas des données claires sur la cinétique d'élimination dû à la variation possible dans le métabolisme entre les individus et l'élimination du brodifacoum.

3-4 Le traitement pour le patient était basé essentiellement sur l'administration de vitamine K1 par voie injectable puis par voie orale, à forte dose (120 mg/j), la seule façon de développer une seconde voie métabolique permettant la transformation de la vitamine K en forme active, la vitamine K1 hydroquinone.

La durée de l'effet anticoagulant est de 45 jours au moins chez l'homme, mais a même a été décrit 8 mois après l'intoxication tous dépendra de la dose ingéré :

une prise de 75 mg de brodifacoum pendant 2 jours (au total environ 2.5 mg/kg) a provoqué des troubles de la coagulation durant 45 jours [12]. D'où l'intérêt de prolonger le traitement et la nécessité de la surveillance du temps de Quick et de l'international normalized ratio (INR) jusqu'à se maintenir stable.

Dans la littérature il est préconisé de faire une décontamination digestive par charbon activé seulement si le patient est vu dans l'heure qui suit l'ingestion. Ainsi que si le TP est inférieur à 20 % et s'il existe des signes hémorragiques patents, la transfusion des facteurs vitamino-K dépendants déficitaires permet une correction rapide des facteurs concernés Une seule administration est en général suffisante en attendant les quelques heures de délai d'action de la vitamine K1 prescrite simultanément [13], [14].

Certains auteurs ont préconisé l'utilisation du phénobarbital pour ses propriétés d'induction enzymatique afin d'accélérer l'élimination des AVK, en association avec la vitamine K1 dont il ne modifie pas l'activité. Les études sont cependant discordantes sur l'efficacité de cette thérapeutique et il n'existe pas de consensus actuel sur son intérêt [14].

4 CONCLUSION

L'intoxication par le brodifacoum est relativement grave. La recherche et le dosage des anticoagulants surtout les anti-vitamine K doivent être demandés devant toute perturbation de l'hémostase d'origine indéterminée.

En cas d'intoxication par un raticide, le traitement par la vitamine K par voie orale doit donc être administré à forte doses jusqu'à ce que les paramètres biologiques soient parfaitement et durablement corrigés. La HPLC avec détecteur à barrettes de diode est d'un grand intérêt afin d'instaurer un traitement précoce et efficace.

CONFLIT D'INTÉRÊT : aucun

REFERENCES

- [1] Hadler MR, Shadolt RS: Novel 4-hydroxycoumarin anticoagulants active against resistant rats. *Nature*; 253: pp 275-277 ; 1975.
- [2] Lund M: Comparative effect of the three rodenticides warfarin, difenacoum and brodifacoum on eight rodent species in short feeding periods. *J Hyg* ; 87: pp 101-107, 1981.
- [3] Park BK, Leck JB: A comparison of vitamin K antagonism by warfarin, difenacoum, and brodifacoum in the rabbit. *Biochem Pharmacol*;31,pp: 3635-3639,1982.

- [4] Leck JB, Park BK: A comparative study of the effect of warfarin and brodifacoum on the relationship between vitamin K1 metabolism and clotting factor activity in warfarin-susceptible and warfarin resistant rats. *Biochem Pharmacol*; 30: pp 123-128, 1981.
- [5] Jones EC, Growe GH, Naiman SC: Prolonged anticoagulation in rat poisoning. *JAMA*; 252: pp 3005-3007, 1984.
- [6] Rauch AE, Weininger R, Pasquale D, et al: Superwarfarin poisoning: A significant public health problem. *J Community Health*;19:55-56, 1994.
- [7] C. Neguin , A. BeuchCe , M. Pommereuil , Intoxication volontaire aux raticides chez une adolescente. *Arch PCdiatr* ; 6 : pp 855-8, 1999.
- [8] L.Gamelin, P.Harry: Rodenticides: EMC toxicology pathologie;2: pp 89-97, 2005.
- [9] F.G. La Rosa, S.H. Clarke and J.B. Lefkowitz, Brodifacoum intoxication with marijuana smoking, *Arch. Pathol. Lab. Med.* 121 ,pp. 67–69, 1997.
- [10] Hoffman RS, Smilkstein MJ, Goldfrank LR. Evaluation of coagulation factor abnormalities in long-acting anticoagulant overdose. *J Toxicol Clin Toxicol* ; 26 : pp 233-48, 1988 .
- [11] J.N. Weitzel, J.A. Sadowski, B.C. Furie, R. Moroosse, H. Kim and M.E. Mount et al., Surreptitious ingestion of a long-acting vitamin K antagonist/rodenticide, brodifacoum: clinical and metabolic studies of three cases, *Blood* 76 ,pp. 2555–2559, 1990.
- [12] Lipton RA, Klass EM. Human ingestion of a “superwarfarin” rodenticide resulting in a prolonged anticoagulant effect. *JAMA* 1984 ; 252 :pp 3004-5.
- [13] Routh CR, Triplett DA, Murphy MJ, Felice LJ, Sadowski JA, Bovill EG. Superwarfarin ingestion and detection. *Am J Hemato*; 36 : pp : 50-4,1991.
- [14] J.J. Vogel, P. de Moerloose, C.A. Bouvier, J. Gaspoz and P. Riant, Anticoagulation prolongée lors d'une intoxication à la chlorophacinone, *Schweiz. Med. Wochenschr.* 118 , pp. 1915–1917, 1988.