

Lien bactériémie-bactériurie chez le veau nouveau-né : évaluation du test urinaire Uriscreeen lors de détection d'une septicémie expérimentale.

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2009
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par*

Nicolas QUENEY

Né le 04 Mai 1982 à Montereau-Fault-Yonne (Seine et Marne)

Directeur de thèse : M. le Professeur François SCHELCHER

JURY

PRESIDENT :
M. Henri DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. François SCHELCHER
M. Gilles MEYER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche

REPARTITION DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS PAR GRADE

(Mise à jour : 01/09/2008)

DIRECTEUR : ALAIN MILON.

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (4)

M.	BRAUN Jean-Pierre	SECTION C.N.E.C.A. N° 7	
M.	DORCHIES Philippe		8
M.	EUZEBY Jean		7
M.	TOUTAIN Pierre-Louis		7

PROFESSEURS 1° CLASSE (11)

M.	AUTEFAGE André		8
Mme	CLAUW Martine		7
M.	CORPET Denis		4
M.	DELVERDIER Maxence		7
M.	ENJALBERT Francis		6
M.	FRANC Michel		8
M.	MARTINEAU Guy		8
M.	PETIT Claude		1
M.	REGNIER Alain		8
M.	SAUTET Jean		7
M.	SHELCHER François		8

PROFESSEURS 2° CLASSE (12)

Mme	BENARD Geneviève		4
M.	BERTHELOT Xavier		6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain		7
M.	CONCORDET Didier		3
M.	DUCOS Alain		6
M.	DUCOS DE LAHITTE Jacques		2
Mme	GAYRARD-TROY Véronique		7
M.	GUERRE Philippe		7
Mme	HAGEN-PICARD Nicole		6
M.	LEFEBVRE Hervé		7
M.	LIGNEREUX Yves		7
M.	PICAVET Dominique		8
M.	SANS Pierre		6
Mle	TRUMEL Catherine		8

PROFESSEUR CERTIFIÉ (P.C.E.A.)

Mle	MICHAUD Françoise, Professeur d'Anglais
M.	SEVERAC Benoît, Professeur d'Anglais

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (1)

M.	JOUGLAR Jean-Yves	8
----	-------------------	---

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (29)

M.	ASIMUS Erik	8
M	BAILLY Jean-Denis	4
Mme	BENNIS-BRET Lydie	7
M.	BERGONIER Dominique	6

M.	BERTAGNOLI Stéphane	7
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle	1
Mle	BOULLIER Séverine	1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie	7
M.	BRUGERE Hubert	4
Mle	CADIERGUES Marie-Christine	8
M	CORBIERE Fabien	6
Mme	DIQUELOU Armelle	8
M.	FOUCRAS Gilles	8
M	GUERIN Jean-Luc	6
M.	JACQUIET Philippe	8
M.	JAEG Jean-Philippe	7
M	LACROUX Caroline	7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle	7
M.	LYAZRHI Faouzi	3
M.	MATHON Didier	8
M.	MEYER Gilles	8
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia	8
M	MOGICATO Giovanni	7
M	MONNEREAU Laurent	7
Mlle	PALIERNE Sophie	8
Mme	PRIYMENKO Nathalie	6
Mme	TROEGELER-MEYNADIER Annabelle	6
M	VERWAERDE Patrick	8
M.	VOLMER Romain	1

MAITRE DE CONFERENCES CONTRACTUEL (5)

Mlle	BUCK-ROUCH Petra	8
M.	CASSARD Hervé	8
M.	DOUET Jean-Yves	8
M.	SEGUELA Jérôme	8
M	VERSET Michaël	8

A.E.R.C. (6)

Mle	BIBBAL Delphine	4
M	CONCHOU Fabrice	8
M	LIENARD Emmanuel	8
M.	NOUVEL Laurent	6
M.	RABOISSON Didier	6
Mle	TREVENNEC Karen	6

Remerciements

Hommage respectueux,

A Monsieur le Professeur Henri Dabernat,
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Bactériologie
Qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

A Monsieur le Professeur François Schelcher,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Qui a eu l'amabilité d'être mon directeur de thèse; pour son sens de la précision et pour ses critiques toujours constructives.

A Monsieur le Professeur Gilles Meyer
Professeur à l' Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie des ruminants
Qui a bien voulu faire partie du jury.

Sincères remerciements,

A Didier Raboisson, pour m'avoir intégré dans cette étude, pour l'aide apportée et pour les lectures attentives de ce travail.

A Julien Clément, pour avoir accepté que ce travail fasse l'objet de ma thèse.

A la mémoire de mes grands-parents

Pour vos attentions et la tendresse qui vous caractérisait.

A mes parents

Pour votre complicité. Pour tous les sacrifices que vous avez fait pour notre bonheur, à Seb et à moi.

A mon frangin

Qui est selon moi un petit génie dans son domaine.

A mes oncles et tantes

Qui ont contribué à me construire et à forger mon caractère.

A Delphine

Pour ton soutien dans ce travail comme dans le quotidien. Pour le fait de faire de ma vie un bonheur. Je t'aime.

A mes anciens collocs, Quentin, Clément, Seby, Ramo

Qui m'ont fait vivre quelques unes des plus belles années ma vie. Qui sait, on se remettra peut-être en colloc' un jour ? en kanakie par exemple...

A tous les copains d'école, la nostalgie me gagne quand je repense à tout ce bon temps...

A la gang du Quebec

Qui ont profondément changé ma vision de la médecine bovine et qui m'ont fait vivre une année inoubliable.

A tous les praticiens qui m'ont transmis leurs connaissances et leur savoir-faire.

Table des matières

Introduction

1. Bactéries impliquées dans les septicémies du veau.....p. 13
2. Présentation et classification d'*Escherichia coli*.....p. 14
3. Facteurs de virulence des souches septicémiques.....p. 14
4. Epidémiologie descriptive et analytique.....p.15
5. Facteurs favorisants de la septicémiep.16
6. Tableau clinique et diagnostic différentiel.....p. 16
7. Bactériémie et bactériurie chez l'Homme.....p. 17
8. Détection de la bactériurie par la mise en évidence d'une activité catalase (test Uriscreen)p. 18
9. Problématique, hypothèses et objectifsp. 21

I. Matériels et méthodes

- I. Animauxp. 23
- II. Locaux, alimentation.....p. 23
- III. Inoculum et inoculation.....p. 24
 1. Description de la souche
 2. Préparation de l'inoculum
 3. Inoculation
- IV. Evolution clinique.....p. 24
- V. Prélèvements et analyses
 1. Techniques de prélèvements.....p. 25
 - a. Prélèvements de sang
 - b. Prélèvements d'urine
 - c. Prélèvements de fécès et d'organes
 2. Nature et séquence des analyses.....p. 27
 - a. Hématologie
 - b. Biochimie
 - c. Bactériologie
 - d. Test Uriscreen
 - e. Biochimie urinaire
- VI. Interprétation des résultats.....p. 31

II. Résultats

I.	Statut des animaux à l'entrée	p. 33
II.	Evolution clinique.....	p. 34
III.	Hématologie et biochimies sanguine et urinaire	
	1. Hématologie.....	p. 36
	2. Biochimie sanguine.....	p. 38
	3. Biochimie urinaire	p. 41
IV.	Bactériologie	
	1. Bactériémie : hémoculture et bactériologie du foie et du rein.....	p. 41
	a. Veaux inoculés	
	b. Veaux témoins	
	2. Bactériurie et association avec la bactériémie.....	p. 43
	3. Bactériologie des fécès.....	p. 45
V.	Test Uriscreen.....	p. 45

III. Discussion

I.	Matériels et méthodes	
	1. Inclusion des animaux.....	p. 49
	2. Alimentation des veaux	p. 49
	3. Technique d'inoculation	p. 50
	4. Prélèvements	p. 50
	a. Technique de prélèvement sanguin et urinaire	
	b. Technique d'isolement et d'identification bactérienne	
II.	Signes cliniques.....	p. 52
III.	Hématologie et biochimie sanguine et urinaire	
	1. Hématologie.....	p. 53
	2. Biochimie sanguine.....	p. 54
	3. Biochimie urinaire.....	p. 54
IV.	Bactériémie et septicémie.....	p. 55
V.	Bactériurie et bactériémie.....	p. 56
	1. Lien entre septicémie et bactériurie, quelque soit la bactérie	

2. Lien entre septicémie et bactériurie, bactérie par bactérie

3. Bilan

VI. Test Uriscreeen.....p. 58

Conclusions.....p.61

Bibliographie.....p. 63

Annexes.....p. 67

Table des illustrations

❖ Tableaux

n°1 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative du test Uriscreen pour la détection précoce des infections du tractus urinaire dans différentes études.

n°2 : Récapitulatif du calendrier des prélèvements

n°3 : Délais entre la naissance et l'inoculation, entre l'inoculation et le début des symptômes et entre le début des symptômes et la mort.

n°4 : Résultats synthétiques des hémocultures

n°5 : Résultats synthétiques des hémocultures et des bactériologies urinaires

n°6 : Résultats comparés des isollements bactériens avec dénombrement d'*E. coli* et du test Uriscreen, réalisés à partir de l'urine des veaux inoculés et témoins

n°7 : Valeurs hématologiques usuelles du veau

❖ Figures

n°1 : Evolution du score clinique principal des inoculés

n°2 : Evolution du score clinique secondaire des inoculés

n°3 : Evolution des leucocytes

n°4 : Evolution des polynucléaires neutrophiles

n°5 : Evolution des plaquettes

n°6 : Evolution du pH sanguin

n°7 : Evolution de la bicarbonatémie

n°8 : Evolution de la pCO₂

n°9 : Evolution de la natrémie

Annexes

- n°1 : Eléments prédictifs de la septicémie à partir d'un score
- n°2 : Grille du score clinique employé pour effectuer le suivi des animaux
- n°3 : Statut en oligoéléments et hormone thyroïdienne des veaux à leur arrivée
- n°3bis : Statut des veaux en protéines totales sériques et GGT plasmatiques
- n°4 : Grille clinique du veau inoculé 1
- n°5 : Grille clinique du veau inoculé 2
- n°6 : Grille clinique du veau inoculé 3
- n°7 : Grille clinique du veau inoculé 4
- n°8 : Grille clinique du veau inoculé 5
- n°9 : Grille clinique du veau témoin 1
- n°10 : Grille clinique du veau témoin 2
- n°11 : Grille clinique du veau témoin 3
- n°12 : Résultats hématologiques des veaux inoculés et témoins
- n°13 : Résultats des gaz sanguins des veaux inoculés et témoins
- n°14 : Résultats des analyses urinaires et des tests Uriscreen des veaux inoculés et témoins
- n°15 : Résultats bactériologiques des inoculés 1, 2 et 3
- n°15bis : Résultats bactériologiques des inoculés 4 et 5
- n°16 : Résultats bactériologiques des témoins
- n°17 : Composition de l'Energaid® (DMV 2005)

Table des abréviations

- **LVD** : laboratoire vétérinaire départemental
- **ENVT** : école nationale vétérinaire de Toulouse
- **UFC** : unité formant colonie

Introduction

La septicémie néonatale du veau est une affection grave, connue depuis le début du siècle dernier. Elle atteint les veaux de moins d'une semaine d'âge et dans la majorité des cas dans les 48 premières heures suivant la naissance. Elle se définit par la présence de bactéries dans le courant sanguin, accompagnée d'un cortège clinique grave (endotoxémie et choc septique), avec une possible localisation bactérienne dans différents organes (articulations, méninges, chambre antérieure de l'oeil...). La bactériémie correspond à un passage transitoire de bactéries dans le sang sans être accompagné de signes cliniques [16, 34].

1. Bactéries impliquées dans les septicémies du veau

La nature et la prévalence des bactéries dans les septicémies a été évaluée en Amérique du Nord, chez des veaux nouveau-nés, âgés de 1 à 19 jours, et avec une diarrhée ou une dépression graves. Une hémoculture positive est observée chez 27,8 % (47/169) des veaux malades et chez aucun des veaux témoins (0/21). Les bactéries identifiées sont *Escherichia coli* (51%), d'autres entérobactéries gram-négatif (25,5%), des anaérobies gram-négatif (5,9%), des coques gram-positif (11,8%) et des bâtonnets gram-positif (5,9%) [19].

Dans une autre étude sur 26 veaux potentiellement septicémiques, les bactéries isolées ont été *Escherichia coli* (17/26 soit 65,5%), *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* (2/26 soit 7,8%), *Arcanobacterium pyogenes* (1/26 soit 3,8%), des Streptocoques du groupe D (3/26 soit 11,5%), *Mannheimia haemolytica* (1/26 soit 3,8%), *Citrobacter* spp. (1/26 soit 3,8%) et *Bacillus* spp. (1/26 soit 3,8%) [25].

Enfin dans une troisième étude, sur 50 veaux âgés de moins d'un mois, des colibacilles ont été retrouvés chez 29 d'entre eux (soit 58 %). Dix autres bactéries ont été isolées lors d'hémocultures. Il s'agit de *Campylobacter* spp. (8/50 soit 16 %), *Staphylococcus* spp. (5/50 soit 10 %), *Streptococcus* spp. (3/50 soit 6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (2/50 soit 4 %), *Arcanobacterium pyogenes* (1/50 soit 2 %), *Mannheimia haemolytica* (1/50 soit 2 %), *Enterococcus* spp. (1/50 soit 2 %), *Acinetobacter* spp. (1/50 soit 2 %), *Bacillus* spp. (1/50 soit 2 %) et *Clostridium* spp. (1/50 soit 2 %) [30].

Au bilan, *Escherichia coli* apparaît comme la principale bactérie pathogène à l'origine de bactériémies et de septicémies chez le veau. D'autres germes (salmonelles, *Campylobacter*, *Klebsiella* et différents *Staphylococcus*) sont également isolés mais en moindre proportion.

2. Présentation et classification d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille gram-négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, en général mobile grâce à un flagelle, aéro-anaérobie facultatif, réduisant les nitrates en nitrites et fermentant le glucose.

Les colibacilles dans l'espèce bovine sont subdivisés en souches diarrhéogènes (comprenant les souches entérotoxigènes ou ETEC, les souches vérotoxigènes ou VTEC et les souches entérotoxigènes ou EPEC) et les souches septicémiques ou ExPEC (Extra Intestinal Pathogenic E coli) [40].

La plasticité du génome des *Escherichia coli* confère à ces bactéries un potentiel évolutif rapide leur autorisant une grande capacité d'adaptation. Ainsi les souches pathogènes sont reliées phylogénétiquement aux souches commensales. L'ensemble des séquences d'acide nucléique associé à la pathogénicité provient essentiellement du transfert horizontal d'ADN par l'intermédiaire de plasmides, de bactériophages ou d'îlots de pathogénicité [37].

Historiquement les différentes souches d'*Escherichia coli* ont été classées sur la base d'un sérotypage utilisant les antigènes somatiques O, capsulaires K et flagellaires H. Les antigènes O correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS). Les antigènes K sont de nature polysaccharidique. Le sérotypage se fait principalement sur la base des antigènes O et H. Le terme de séro groupe est employé si l'antigène H n'est pas identifié. Chez les bovins, les sérogroupes des souches septicémiques décrites sont principalement O2, O4, O8, O11, O15, O20, O55, O78, O86, O88, O115, O117, O123, O137 et O153 [37, 40]. L'importance relative des différents sérogroupes varie avec les études (régions géographiques). Les sérogroupes O78, O137 et O153 sont considérés comme majeurs [16].

3. Facteurs de virulence des souches septicémiques

La septicémie est le résultat du franchissement d'un certain nombre d'obstacles par les bactéries : la colonisation efficace de l'intestin, la résistance aux défenses immunitaires de l'animal, le passage dans la circulation sanguine (translocation), la multiplication dans le sang en y trouvant le fer nécessaire à leur croissance, et enfin la production des lésions.

Les facteurs de pathogénicité associés à ces différentes étapes sont :

- les facteurs d'adhésion [37, 40]

Ces facteurs sont nommés adhésines et sont soit fimbriaires soit non fimbriaires. Les plus courantes sont les adhésines fimbriaires des familles F17 (principalement F17b) et P (F165) et

l'adhésine non fimbriaire CS31A. De nouvelles adhésines ont été détectées chez les ExPEC comme les adhésines Afa8, F1C et Sfa.

- **les toxines [37, 40]**

Les endotoxines (LPS) sont responsables du choc septique en stimulant les cellules de l'inflammation (neutrophiles, monocytes, macrophages, cellules endothéliales...). La libération de différents médiateurs et cytokines (Tumor Necrosis Factor ou TNF, interleukines, leucotriènes, radicaux libres, oxyde nitrique...) entraîne alors une réaction inflammatoire en cascade aux conséquences délétères sur le système cardiovasculaire et les organes cibles.

Outre les endotoxines, les ExPEC des veaux sont capables de produire un grand nombre de toxines protéiques à savoir l'alpha-hémolysine, les facteurs cytotoxiques et nécrosants (CNF 1 et CNF 2 ou toxine Vir), les toxines cytolétales (CDT I, II, III, IV...)... L'alpha-hémolysine lyse les hématies; elle contribuerait lors de septicémie au développement des bactéries dans le sang en augmentant la disponibilité du fer (fer libéré par la lyse des hématies). Les CDT entrent dans le noyau, induisent l'arrêt du cycle cellulaire puis la mort par apoptose. Les CNF modifient le cytosquelette.

- **la capacité de résistance au complément [37, 40]**

La capsule polysaccharidique de type K1, et dans une moindre mesure certains antigènes O, permettent aux colibacilles d'échapper à la phagocytose et de résister au complément.

- **le système de captation du fer [40, 41]**

Les bactéries septicémiques possèdent des sidérophores comme l'entérobactine, l'aérobactine et la yersiniabactine, capables de fixer le fer ferrique avec une affinité équivalente à celle de la transferrine. Le plus efficace des sidérophores s'avère être l'aérobactine.

Les souches septicémiques renferment souvent les plasmides Col V ou Vir qui portent des gènes codant pour des facteurs de virulence. La souche d'*Escherichia coli* O78 K80 est en l'occurrence porteuse du plasmide Vir, qui code pour la toxine Vir (= CNF 2) et l'antigène de surface Vir (= F17b).

4. Epidémiologie descriptive et analytique

Les septicémies sont observées dans tous les types d'élevages. Il n'y a pas d'effet de la race. Les taux de morbidité et de mortalité sont très variables en fonction des élevages (pratiques, microbisme).

Les sources sont les animaux ainsi que l'environnement. Les veaux malades constituent une source de contamination brève mais importante et ont un rôle de

multiplicateur des bactéries. Les bovins porteurs sains et les adultes en particulier entretiennent la circulation au sein des troupeaux.

Les voies d'excrétion des bactéries septicémiques sont diverses. Les fécès constituent la principale voie d'excrétion [34]. Cependant, on a pu retrouver expérimentalement des souches septicémiques dans les sécrétions orales, nasales ainsi que dans l'urine.

La transmission se réalise :

- soit par contact direct (de veau à veau ou de vache à veau) : par voie fécale-orale principalement mais aussi par l'infection de l'arbre respiratoire via des aérosols (sécrétions orales, nasales ou urine).
- soit par contact indirect via un environnement souillé (litière), la mamelle ou le matériel d'élevage en général... [4].

Les voies de contamination sont essentiellement orale, nasale ou ombilicale. Après exposition orale, les bactéries traversent la paroi digestive à hauteur du pharynx ou de l'intestin. Après franchissement des nœuds lymphatiques, les bactéries prolifèrent ultérieurement dans le sang et les différents organes.

5. Facteurs favorisant de la septicémie

Les facteurs favorisant le développement de septicémies chez les veaux sont des facteurs liés à l'animal (carences, colostrum trop pauvre en immunoglobulines, mise-bas difficile...) et des facteurs liés à la conduite d'élevage (mauvaises conditions d'hygiène, densité de population trop importante, mélange de veaux d'âges différents). Tout ceci tend à diminuer les capacités de défenses des animaux et à augmenter la pression d'infection. Un défaut de transfert d'immunité passive (colostrum) est probablement le facteur le plus important et le plus souvent associé aux septicémies [4].

6. Tableau clinique et diagnostic différentiel

L'évolution clinique de la septicémie est rapide et souvent fatale. Dans la forme suraiguë les signes apparaissent entre 6 et 8 heures après la contamination [34].

Le tableau clinique se traduit par un état léthargique avec relever impossible, manque d'appétit, absence de réflexe de succion, hyper ou hypothermie. La température semble être le critère le moins prédictif lors de septicémie [34]. L'endotoxémie sévère explique l'abattement, la tachycardie voire la tachyarythmie, des pétéchies sur les muqueuses orale et conjonctivale ainsi qu'une vasodilatation au niveau de la sclère [18]. La diarrhée est un signe

non constant, généralement présent en phase terminale [34]. Des signes nerveux peuvent être présents (opisthotonos, pédalage, convulsions, nystagmus).

Les formes localisées, secondaires à la bactériémie, ne sont pas rares. Elles intéressent les articulations (mono ou polyarthrites), surtout les jarrets, les carpes et les coudes, les méninges, les yeux (hypopion) et l'ombilic.

Le diagnostic différentiel doit tenir compte des maladies [34] :

- non infectieuses :

- hypoxie et anoxie consécutives au vèlage
- hémorragie ombilicale ou interne suite à un traumatisme
- ictère hémolytique du veau nouveau-né (rare)

- infectieuses :

- colibacillose à *E. coli* F5 : diarrhée aqueuse et profuse accompagnée de déshydratation sévère et rapide. Les symptômes sont essentiellement liés au choc hypovolémique et à l'acidose métabolique liée à la perte de sodium dans les fèces.
- salmonellose : les selles sont liquides, nauséabondes avec des éléments anormaux (sang et débris nécroticofibrineux). Les sérotypes rencontrés sont essentiellement *Salmonella* Typhimurium et Dublin.
- Différents pathogènes viraux (BVD, BTV...) ou bactériens (*Chlamydomphila*, *Coxiella*...)

Face à la complexité clinique et l'importance de réagir rapidement face à une septicémie, des modèles prédictifs ont été proposés de la septicémie chez le veau (annexe 1), basés sur l'observation des signes cliniques seuls ou en association avec des critères de laboratoire.

7. Bactériémie et bactériurie chez l'Homme

En médecine humaine, les septicémies du nourrisson restent une cause importante de morbidité et de mortalité [13]. Les symptômes sont généralement peu spécifiques rendant le diagnostic difficile. Beaucoup d'auteurs ont essayé d'établir une corrélation entre des critères hématologiques et biochimiques et la présence de septicémie. Trois méta-analyses [12, 21, 31] ont mis en évidence la grande discordance de résultats obtenus par les différentes études réalisées ces dernières années. Deux mesures sont cependant largement utilisées : la formule leucocytaire et le dosage de la protéine C-réactive (marqueur de l'inflammation). La

combinaison de ces deux variables permet d'augmenter la prédictivité pour la détection de la septicémie néonatale [21], sans pour autant qu'un consensus ne soit établi.

La relation entre bactériémie et bactériurie a été évaluée en médecine humaine. Chez l'humain adulte, une corrélation entre la bactériémie et la bactériurie a été mise en évidence : 27 % (16 cas sur 59) des sujets avec hémoculture positive pour *Staphylococcus aureus* avaient, dans les 48 heures suivant l'examen sanguin, une bactériurie significative ($> 10^5$ UFC/mL) pour la même bactérie et le même antibiogramme. Dans 6 cas sur 16, l'infection urinaire à *Staphylococcus aureus* était à l'origine d'une bactériémie secondaire alors que dans les 10 autres cas sur 16 la bactériurie était consécutive à la bactériémie [27].

Dans une autre étude, sur 16 patients bactériémiques à *Escherichia coli*, la bactériologie urinaire était positive dans 12 cas, dont seulement 3 avec des signes cliniques d'infection du tractus urinaire. Chez 8 de ces 16 patients, un sérotypage de la souche d'*E. coli*, retrouvée dans le sang et dans l'urine, a été effectuée. La même souche a été isolée dans le sang et l'urine de 6 de ces 8 patients. Parmi ces 8 individus, un seul présentait des signes cliniques d'infection du tractus urinaire [7].

8. Détection de la bactériurie par la mise en évidence d'une activité catalase (test Uriscreen)

La catalase est une enzyme présente dans la plupart des bactéries (exceptions : la plupart des espèces de *Streptococcus*, d'*Aerococcus* et de Lactobacilles [3]) de même que dans les cellules somatiques (leucocytes et érythrocytes). L'activité catalase dans une urine stérile est considérée comme nulle [6]. Afin de détecter précocement une infection du tractus urinaire chez l'enfant et chez la femme enceinte, l'activité catalase dans l'urine est recherchée grâce à un test (Uriscreen) rapide et économique. Ce test permet de détecter dans l'urine une population bactérienne d'au moins 50 000 unités formant colonies (UFC) par mL d'urine, ou bien au moins 10 cellules somatiques par champ au fort grossissement (analyse microscopique) [44].

De nombreux auteurs ont étudié, chez l'enfant et chez la femme enceinte, l'efficacité du test Uriscreen dans la détection d'une bactériurie [3, 8, 9, 11, 24, 32, 38, 39, 44]. Les résultats varient en fonction de la population (patients symptomatiques ou asymptomatiques d'infection du tractus urinaire), du test de référence pour la bactériurie c'est-à-dire le seuil d'un dénombrement positif, la technique employée pour la collecte des urines et enfin des germes isolés (fonction de la proportion de germes catalase positif et négatif). Les sensibilités,

spécificités, valeurs prédictives positives et négatives ont généralement été calculées avec un seuil de détection de 50 000 à 100 000 UFC/mL (tableau 1). La sensibilité diminue si l'on passe d'une population symptomatique à une population asymptomatique, les cellules inflammatoires étant beaucoup plus présentes dans une population symptomatique d'infection du tractus urinaire [43].

Le test Uriscreen semble avoir une bonne sensibilité, une spécificité médiocre à moyenne, une mauvaise valeur prédictive positive et une bonne valeur prédictive négative pour la détection d'infection urinaire.

Tableau 1 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative du test Uriscreeen pour la détection précoce des infections du tractus urinaire dans différentes études.

Etude/Référence	Caractéristiques de la population	Méthode de prélèvement urinaire	Test de référence : culture sur urine	Prévalence des patients bactériuriques (%)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
Teppa et al. 2005 [43]	150 femmes enceintes asymptomatiques d'ITU	Cathétérisation vésicale	Positif si $> 10^2$ UFC/mL d'un seul pathogène	18,7	60,7	89,3	56,6	90,8
Millar et al. 2000 [32]	383 femmes enceintes asymptomatiques d'ITU	Miction (milieu de jet) après désinfection	Positif si $> 10^4$ UFC/mL d'un seul pathogène	11,2	70	45	14	92
Hagay et al. 1996 [24]	313 femmes enceintes symptomatiques ou asymptomatiques d'ITU	Miction (milieu de jet) après désinfection	Positif si $> 10^5$ UFC/mL d'un seul pathogène	7,6	100	81	30	100
Waisman et al. 1999 [44]	121 enfants (1 mois à 17 ans) symptomatiques d'ITU	Miction, cathétérisation vésicale ou ponction vésicale par voie transabdominale	Positif si * $> 10^5$ UFC/mL : miction * $> 10^3$ UFC/mL : cathétérisation vésicale * $> 10^2$ UFC/mL : ponction vésicale	28,9	100	68,6	56,4	100
Palmer et al. 1997 [38]	200 enfants (0 à 15 ans) asymptomatiques d'ITU	Cathétérisation vésicale	$> 50\ 000$ UFC/mL	23	65,2	85,7	57,7	89,2
Pezzlo et al. 1992 [39]	1500 patients (tous âges) symptomatiques ou asymptomatiques d'ITU	Miction ou cathétérisation vésicale	Positif si $> 10^2$ UFC/mL et/ou > 10 leucocytes/ml d'urine	20	88 * $>10^5$ UFC/mL : 95 * 10^4 - 10^5 : 70 * 10^2 - 10^4 : 53	68	54	93
Dalton et al. 1993 [11]	478 patients (tous âges) symptomatiques ou asymptomatiques d'ITU	Miction (milieu de jet) après désinfection	* $> 10^5$ UFC/mL * $10^4 - 10^5$ UFC/mL * $10^3 - 10^4$ UFC/mL	* 29,2 * 21,5 * 19,4	* 62 * 44 * 38	* 85 * 87 * 91	* 63 * 78 * 91	* 84 * 60 * 38
Berger et al. 1990 [3]	500 patients (tous âges) symptomatiques ou asymptomatiques d'ITU	Miction (milieu de jet) après désinfection	Positif si $> 10^5$ UFC/mL	27	83	71	79	76

ITU : infection du tractus urinaire

Se : sensibilité; Sp : spécificité; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative

9. Problématique, hypothèses et objectifs

Le diagnostic précoce de la septicémie néonatale reste donc un défi pour le praticien autant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine. Le diagnostic de certitude grâce à l'hémoculture nécessite 24 à 48 heures pour obtenir un résultat. En outre cet examen s'avère coûteux et difficile à réaliser en pratique courante (risque de contaminations).

Face aux difficultés du praticien vétérinaire, l'hypothèse a été formulée que le test Uriscreen® pourrait être un test diagnostique de la septicémie néonatale chez le veau, rapide, peu coûteux et réalisable au chevet de l'animal. Cependant le lien entre bactériémie et bactériurie n'est pas décrit chez le veau.

La validation de cette hypothèse repose sur une démarche en deux temps :

- en conditions contrôlées donc expérimentales, de démontrer le lien entre bactériémie, bactériurie et positivité du test Uriscreen.
- en conditions de terrain, d'évaluer les performances du test Uriscreen pour le diagnostic de septicémie.

Les objectifs de cet essai sont d'évaluer, en conditions expérimentales, le lien entre bactériémie et bactériurie chez le veau septicémique et la possible utilisation du test Uriscreen en tant que marqueur de la bactériurie.

|

|

I. Matériels et méthodes

I. Animaux

Huit veaux de race Prim'Holstein, de sexe mâle, âgés de moins de 24 heures et issus de vêlage facile ont été inclus dans l'essai. Les veaux ont été séparés de leur mère dès la naissance, n'ont pas reçu de colostrum et ont été transportés de l'élevage d'origine jusqu'à l'ENVT avant 6 heures d'âge. Ils provenaient d'élevages à proximité de Toulouse (25 km maximum).

Les critères d'inclusion étaient un poids vif supérieur à 40 kg, des protéines totales sériques < 50 g/L, une virologie sanguine (EDTA) BVD (via PCR quantitative) négative et un examen clinique normal.

Au total cinq veaux ont été inoculés et trois inclus comme témoins.

Les dosages du cuivre, du zinc, de la GSH-Pxe, de l'iode inorganique plasmatique (II P) et de la thyroxine (T4) ont été effectués à partir de prélèvements sanguins réalisés sur héparinate de lithium.

Une tonte large suivie d'un rasage minutieux a été réalisée sur les deux gouttières jugulaires et sur l'abdomen ventral.

L'ombilic a été désinfecté deux fois à 4 heures d'intervalle avec de la teinture d'iode, par trempage pendant deux minutes.

II. Locaux, alimentation

Les animaux ont été logés dans une salle isolée et close, en box individuels et paillés. Au maximum, deux veaux ont été inclus simultanément, soit deux témoins, soit deux inoculés. La température ambiante était comprise entre + 15 et + 25 °C. Un nettoyage et une désinfection à l'eau chaude (80°C) sous pression, additionnée d'eau de javel ont été effectués de façon minutieuse entre chaque animal ou chaque série; un nettoyage à grande eau et une désinfection à l'eau de javel ont été réalisés entre chaque série de prélèvements.

Les veaux inoculés n'ont pas reçu de colostrum à leur arrivée. Les veaux témoins ont ingéré un substitut de colostrum (Locatim®). Tous ont été nourris exclusivement avec un soluté réhydratant et énergétique (Energaid®, composition dans l'annexe n°17), à raison de 1,5 L, trois fois par jour. En cas de refus de tétée, une prise légèrement forcée était envisagée.

Les télines ont été désinfectées entre chaque tétée à l'aide d'une solution à base de chlorexidine.

III. Inoculum et inoculation

L'inoculum a été préparé à chaque inclusion de veaux.

1. Description de la souche

La souche inoculée était la souche septicémique d'*Escherichia coli* de sérotype O78 : K80, porteuse du gène Vir, gracieusement fournie par Mr E. Oswald (UMR INRA-ENVT 1225).

2. Préparation de l'inoculum

- a. culture de la souche d'*Escherichia coli* sur gélose au sang
- b. préparation d'une suspension bactérienne en eau physiologique
- c. ensemencement d'un flacon trypticase soja
- d. incubation 4 heures à 37 °C
- e. dénombrement de l'inoculum : 10^9 à 10^{10} UFC/mL d'*E. coli* O78 : K80

3. Inoculation

Les veaux ont été inoculés systématiquement avant 36 heures d'âge.

Une dose unique de 50 mL d'inoculum contenant 10^9 à 10^{10} UFC/mL a été administrée par voie orale, 5 minutes après la buvée de 0,5 L d'une solution tiède de bicarbonate de sodium à 1,4%.

IV. Evolution clinique

Un suivi clinique a été réalisé toutes les deux ou quatre heures, de l'inoculation à l'apparition des symptômes puis toutes les deux heures ou toutes les heures jusqu'à la mort naturelle ou l'euthanasie de l'animal.

Un score clinique (annexe 2) fondé sur cinq points (la température rectale, le comportement, l'aptitude au relever, le réflexe de succion et l'appétit) a été utilisé. Une note de 1 à 3 a été attribuée à chaque critère (3 étant normal). Ainsi un score de 15 correspondait à un veau en parfaite santé. Un score inférieur ou égal à 11 a été considéré comme le seuil d'apparition des signes cliniques de septicémie. Cette démarche a été utilisée dans un essai précédent [34].

D'autres signes (l'aspect du nombril, des fécès, des articulations, des conjonctives, des vaisseaux de la sclère, la déshydratation et l'énophtalmie) ont été recensés mais non retenus pour juger l'apparition d'une septicémie.

V. Prélèvements et analyses

1. Techniques de prélèvements

a. Prélèvement de sang

❖ Préparation

- Contention de l'animal en décubitus latéral à l'aide de trois lacs (deux pour les membres et un pour la tête) désinfectés à l'eau de Javel.
- Nettoyage à l'alcool de toute la zone du cou pour retirer les poils et la matière organique.
- Nettoyage et désinfection de la zone de prélèvement (zone rasée), du centre vers l'extérieur, par alternance de Vétédine® savon et d'alcool (quatre passages). Un temps de contact de la Vétédine® d'environ 30 secondes a été respecté à chaque passage.
- Application de Vétédine® solution sur la zone de prélèvement.

❖ Réalisation

- La personne qui réalise le prélèvement porte des gants à usage unique sur lesquels est appliquée de la Vétédine solution®. La réalisation du prélèvement se fait avec une aiguille 20G et une seringue de 20 mL, tout en restant dans un cône stérile produit par un chalumeau portable.
- Un second opérateur réalise la compression de la veine jugulaire et fournit le matériel.
- 20 mL de sang sont prélevés.
- Changement d'aiguille dans le cône stérile et injection de 10 à 15 mL de sang dans un milieu de culture Hémoline performance diphasique® (Biomérieux). Le flacon d'Hémoline se compose de deux milieux, d'une part 40 ml de bouillon additionné d'anticoagulant (polyanéthosulfonate de sodium, SPS) et enrichi en facteurs de croissance (NAD, hémine, Vit.

B6, purines, pyrimidines...) et d'autre part une gélose recouvrant une des faces du flacon. Une atmosphère de CO₂ est en contact direct avec le bouillon et la gélose. Il s'agit d'un milieu aérobie, la recherche des anaérobies strictes n'a pas été effectuée.

- Le flacon est immédiatement placé à l'étuve à 37 °C.
- Le reste du sang est déposé dans des tubes héparinés ou EDTA pour mesure des gaz sanguins et/ou une numération-formule.
- Chaque série de prélèvements est réalisée alternativement sur l'une des deux veines jugulaires.

b. Prélèvement d'urine

Les mêmes précautions opératoires que pour l'hémoculture ont été appliquées.

- L'animal est couché en décubitus dorsal et contenu par des lacs.
- La même préparation de désinfection est réalisée sur la zone de prélèvement correspondant dans ce cas à un carré de 20 cm² centré sur la ligne médiane de l'abdomen caudal.
- Le prélèvement est réalisé par un opérateur avec des gants non stériles imbibés de Vétédine solution®, avec une aiguille 20 G (diamètre 0,90 mm et longueur 40 mm). Celle-ci est enfoncée jusqu'à la garde, 1 cm crânialement à la symphyse pubienne sur la ligne blanche, perpendiculairement à l'axe sagittal de l'animal et l'urine qui s'écoule spontanément est collectée à la seringue avec une aspiration douce.
- Un second prélèvement est envisagé en cas d'échec du premier.
- Après changement d'aiguille dans un cône stérile, l'urine est injectée dans un tube sec dont le bouchon est désinfecté à l'alcool, essuyé puis passé à la flamme. Le prélèvement est alors placé soit dans la glace et envoyé directement au laboratoire de bactériologie soit au réfrigérateur à 4°C en attente de l'envoi.
- La difficulté éventuelle du prélèvement est notifiée.

c. Prélèvement de fécès et d'organes

- Le prélèvement de fécès est placé soit dans la glace et envoyé directement au laboratoire de bactériologie soit placé au réfrigérateur à 4°C en attente de l'envoi.
- Chaque animal a été autopsié avec un prélèvement de foie et de rein, réalisé dans un cône stérile puis envoyé dans la glace au laboratoire de bactériologie.

2. Nature et séquence des analyses

T0 correspond à l'arrivée de l'animal à l'ENVT, I le moment de l'inoculation, H0 le début des signes cliniques de septicémie (moment où le score clinique est inférieur ou égal à 11) et H les heures de prélèvement à partir du début de signes cliniques. Après le début des signes cliniques, des prélèvements de sang et d'urine étaient réalisés environ toutes les 6 heures jusqu'à la mort.

Tableau 2 : récapitulatif du calendrier des prélèvements

				Phase clinique de septicémie				
		arrivée (T0)	Inoculation (I)	H0	H0<H**<H6	H6<H**<H12	...	H mort
SANG	hématologie	+		+				+
	gaz sanguin	+		+	+	+	+	+
	bactériologie	+		+	+	+	+	+
URINE	bactériologie	+		+	+	+	+	+
	Uriscreen	+		+	+	+	+	+
	bandelette	+		+	+	+	+	+
	Heller	+		+	+	+	+	+
	pH	+		+	+	+	+	+
FECES	bactériologie	+		+				
	analyse spécifique *							+
ORGANES	bactériologie							+

* : typage *E. coli* facteur d'attachement F5, Salmonelles, Cryptosporidies, Rotavirus et Coronavirus

** : heure de prélèvement entre H0 et H6 ou entre H6 et H12

a. Hématologie

Une hématologie (Hemavet 950, Drew Scientific, Wayne, USA) a été effectuée à T0, H0 et juste avant la mort de l'animal. Si le délai d'analyse par le laboratoire excédait 24 heures, le prélèvement n'était pas soumis.

b. Biochimie

Les prélèvements sur sang veineux ont été effectués à T0, H0 puis toutes les six heures à partir de H0 et ceci jusqu'à la mort de l'animal. L'analyse était réalisée dans les 5 à 10 minutes suivant le prélèvement.

Les paramètres biochimiques ont été mesurés à l'aide d'un analyseur portable (VetStat Electrolyte and Blood Gaz Analyser ; IDEXX) munis de cassettes (VetStat fluidotherapie/Acide-Base ; IDEXX, Westbrook, USA). L'appareil était situé en salle climatisée.

Les paramètres mesurés ont été :

- le pH sanguin
- la pression partielle en dioxyde de carbone : $p\text{CO}_2$ (mmHg)
- la natrémie : $[\text{Na}^+]$ (mmol/L)
- la kaliémie : $[\text{K}^+]$ (mmol/L)
- la chlorémie : $[\text{Cl}^-]$ (mmol/L)

L'analyseur calculait ensuite, à partir des paramètres mesurés, les paramètres suivants :

- la concentration en ions bicarbonates $[\text{HCO}_3^-]$:

$$\log [\text{HCO}_3^-] = \text{pH} + \log p\text{CO}_2 - 7,608$$

Cette méthode de calcul découle de l'équation d'Henderson Hasselbach :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3])$$

avec le pKa du couple = 6,1.

- la teneur en CO₂ total : $t\text{CO}_2 = [\text{HCO}_3^-] + 0,03 p\text{CO}_2$

c. Bactériologie

- **Sang** : une hémoculture a été réalisée à T0, H0 puis toutes les six heures à partir de H0 et ceci jusqu'à la mort de l'animal.

- **Isolement** :

- A la réception de l'échantillon (Hémoline®), un repiquage (0,1 mL par boîte) était effectué sur gélose au sang (fournisseur Oxoid) et Drigalski (fournisseur Biomérieux). Les géloses étaient incubées 24 et 48 heures à 37 °C.
- Après incubation de l'hémoline 24 heures à 37°C, un nouveau repiquage était réalisé, comme indiqué ci-dessus.

- **Identification** : galerie API 20^E

- **Sérotypage *E. coli* O78 K80 si présence d'*E. coli*** : méthode d'agglutination sur lame (fournisseur Biovac) de 5 colonies repiquées à partir de la gélose au sang.

- **Urine** : une bactériologie sur l'urine a été réalisée à T0, H0 puis toutes les six heures à partir de H0 et ceci jusqu'à la mort de l'animal. En plus de l'isolement et de l'identification bactérienne, un dénombrement des *E. coli* a été réalisé.

- **Isolement** :
 - A la réception de l'échantillon d'urine, un ensemencement sur gélose au sang et Drigalski (0,1 mL par boîte) était effectué. Les géloses étaient incubées 24 et 48 heures à 37 °C.
 - De plus l'ensemencement (0,1 mL d'urine) d'un bouillon BUSP (fabriqué par le LVD 82 à partir de poudre AES) était effectué. Après incubation 24 à 48 heures, un repiquage était réalisé sur gélose au sang et Drigalski, comme indiqué ci-dessus.
- **Identification** : galerie API 20^E
- **Sérotypage *E. coli* O78 K80 si présence d'*E. coli*** : méthode d'agglutination sur lame (fournisseur Biovac) de 5 colonies repiquées à partir de la gélose au sang.
- **Dénombrement** : seul le comptage des *E. coli* a été effectué, ceci sur milieu sélectif TBX (milieu prêt à l'emploi AES), via dilution en eau peptonée 1/100, 1/1000 et 1/100 000 (incubation 18 à 24 heures à 37°C).

Une bactériurie était considérée comme significative si le dénombrement urinaire était ≥ 1000 UFC/mL.

- **Fécès** : bactériologie (culture sur gélose au sang et Drigalski) avec dénombrement d'*E. coli* (même technique que pour l'urine) et sérotypage *E. coli* O78 K80 (technique d'agglutination sur lame) si présence d'*E. coli*. Une bactériologie sur fécès était effectuée à T0, H0 et juste avant ou juste après la mort de l'animal en cas de mort naturelle. Ce dernier prélèvement faisait en plus l'objet de recherche du facteur d'attachement F5 d'*E. coli* (technique d'agglutination sur lame), de Salmonelles (technique : culture spécifique via la méthode NF U 47 100), de Cryptosporidies (technique de Heine), de Rotavirus (technique :

Elisa via le kit Pourquier, lot 549) et de Coronavirus (technique : Elisa via le kit Pourquier, lot 549).

- **Organes** : chaque animal a été autopsié, un prélèvement de foie et de rein a été envoyé pour bactériologie (culture sur gélose au sang et Drigalski) avec sérotypage *E. coli* O78 K80 si présence d'*E. Coli*.

d. Test Uriscreen

La catalase catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en dioxygène et eau selon l'équation bilan :



Un test Uriscreen était réalisé après collecte de l'urine.

1) Procédure d'utilisation du test Uriscreen :

- Transfert de 1,5 à 2 ml d'urine dans un tube à essai fourni contenant la poudre de réactif du coffret Uriscreen.
- Ajout de 4 gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène à 10% dans le tube à essai. Mélange pendant environ 5 secondes, doucement pour ne pas produire de mousse.
- Surveillance de la formation de mousse pendant les 1 à 2 minutes suivantes. Si le test est positif, de la mousse se forme à la surface du liquide.

2) Interprétation des résultats :

- Résultats positifs : anneau complet de mousse (positif faible, noté +) ou couche continue à la surface du liquide longeant la paroi du tube à essai (positif fort, noté ++).
- Résultats négatifs (notés 0) : absence de mousse ou présence d'un anneau incomplet au dessus du liquide après 2 minutes à partir de l'ajout du peroxyde d'hydrogène.

e. Biochimie urinaire

Une bandelette urinaire (Combur Test® N° 10) ainsi qu'un test de Heller ont été réalisés sauf si la quantité d'urine récoltée était insuffisante.

Le test de Heller consiste à mélanger un volume d'acide nitrique concentré avec un même volume d'urine. Le résultat est positif si un flocculat blanchâtre se forme à l'interface entre l'acide nitrique et l'urine. Ce test met en évidence une protéinurie. Plus le flocculat est épais, plus la protéinurie est importante (noté + pour 1 mm d'épaisseur, ++ pour 2 mm et +++ pour 3 mm).

Une double mesure du pH urinaire au pH-mètre a été réalisée. La moyenne des deux valeurs a été retenue.

VI. Interprétation des résultats

Les scores cliniques après le début des signes cliniques (H0) des veaux inoculés ont été comparés statistiquement à ceux à l'arrivée à l'ENVV (T0), par un test de Student.

Les résultats des examens complémentaires, des bactériologies et des tests Uriscreen ont été comparés individuellement ou en groupe.

II. Résultats

I. Statut des animaux à l'entrée (annexe 3 et 3bis)

Tous les animaux à leur arrivée étaient en très bon état général (note de 15 au score clinique).

Toutes les virologies BVD ont été négatives.

Toutes les protéinémies sériques ont été inférieures à 46 g/L et l'activité de la GGT était dans les valeurs usuelles.

Chez les témoins, après la prise de Locatim®, les protéines totales et les GGT plasmatiques ont augmenté (respectivement entre 47,3 et 50,8 g/L et entre 1096 et 2564 U/L).

Les statuts en oligoéléments et hormone thyroïdienne sont les suivants :

- cuivre :
 - moyenne des inoculés : 4,61 $\mu\text{mol/L}$ (minimum : 2,80 $\mu\text{mol/L}$ et maximum : 6,36 $\mu\text{mol/L}$)
 - moyenne des témoins : 6,52 $\mu\text{mol/L}$ (minimum : 4,53 $\mu\text{mol/L}$ et maximum : 9,97 $\mu\text{mol/L}$)
- zinc :
 - moyenne des inoculés : 17,31 $\mu\text{mol/L}$ (minimum : 8,78 $\mu\text{mol/L}$ et maximum : 23,55 $\mu\text{mol/L}$)
 - moyenne des témoins : 11,71 $\mu\text{mol/L}$ (minimum : 10,27 $\mu\text{mol/L}$ et maximum : 13,61 $\mu\text{mol/L}$)
- GSH-Pxe :
 - moyenne des inoculés : 146 U/gHb (minimum : 38 U/gHb et maximum : 414 U/gHb)
 - moyenne des témoins : 196 U/gHb (minimum : 17 U/gHb et maximum : 342 U/gHb)
- Iode plasmatique inorganique : tous les animaux ont un niveau d'iode plasmatique inorganique supérieur à 105 $\mu\text{g/L}$ (valeur minimale usuelle)
- T4 :
 - moyenne des inoculés : 210 nmol/L (minimum : 157 nmol/L et maximum : 251 nmol/L)
 - moyenne des témoins : 196 nmol/L (minimum : 192 nmol/L et maximum : 200 nmol/L)

II. Evolution clinique (annexes 4 à 11)

Sur les 5 veaux inoculés, 5 ont eu des signes cliniques de septicémie, 2 sont morts naturellement (inoculés 3 et 4) et les 3 autres (inoculés 1, 2 et 5) ont été euthanasiés, avec un état général très dégradé.

Sur les 3 veaux témoins le score clinique est resté de 15/15 tout au long de l'essai. Les veaux témoins (1, 2 et 3) ont été euthanasiés aux heures correspondant à l'heure de mort des veaux inoculés 1, 2 et 3.

Les délais inoculation/début des symptômes et début des symptômes/mort ont fortement varié (tableau 3).

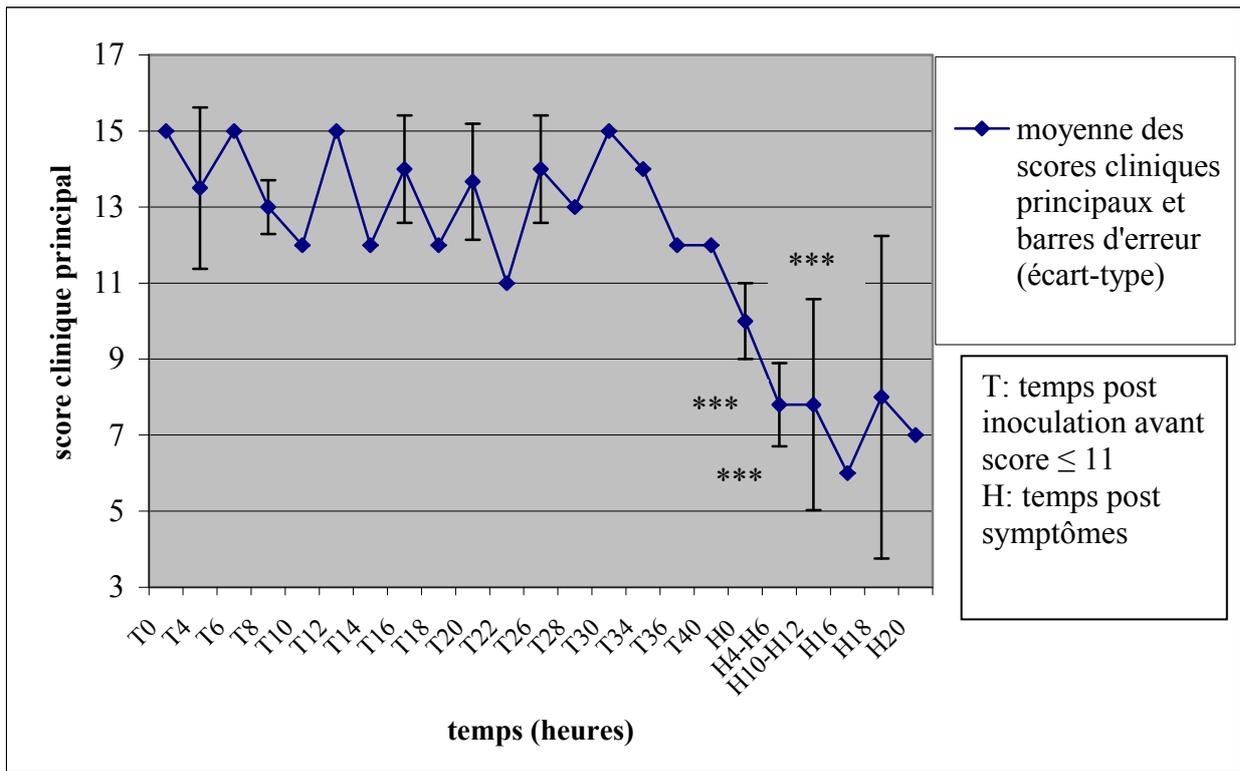
Tableau 3: délais entre la naissance et l'inoculation, entre l'inoculation et le début des symptômes et entre le début des symptômes et la mort.

N° du veau inoculé	Délai naissance/inoculation (heures)	Délai inoculation/symptômes (heures)	Délai symptômes/mort (heures)
1	37	46	18
2	26	22	20
3	8,5	22	23
4	32	38	10
5	33	36	9
Moyenne	27,3	32,8	16
Médiane	32	36	18
Ecart-type	11,2	10,5	6,2
Minimum	8,5	22	9
Maximum	37	46	23

Les scores cliniques, principal et secondaire, ont suivi une évolution parallèle.

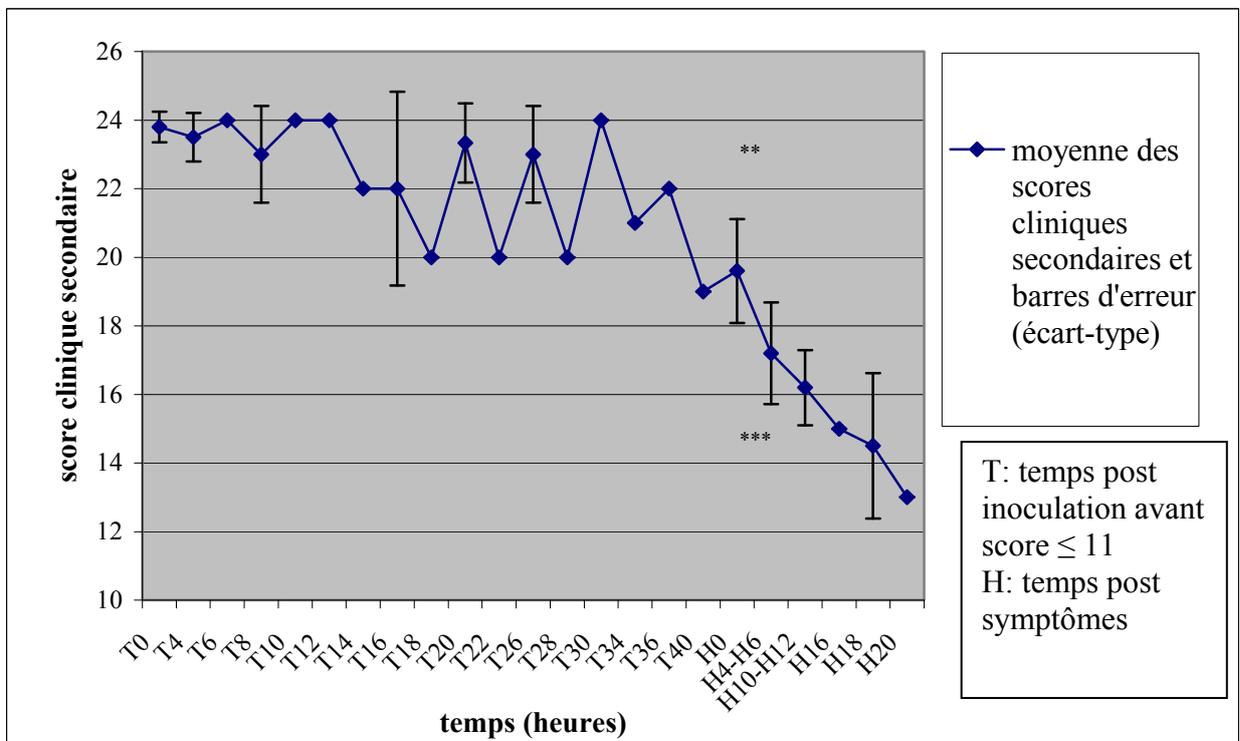
Des signes cliniques secondaires ont été observés avant que le seuil de 11/15 du score principal ne soit atteint. Ces signes ont été :

- une congestion des vaisseaux scléraux (n=3)
- une diarrhée (n=3)
- une arthrite du jarret avec un pic de fièvre à 40°C (n=1)



* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$

Figure 1 : évolution du score clinique principal des inoculés



* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$

Figure 2 : évolution du score clinique secondaire des inoculés

III. Hématologie et biochimies sanguine et urinaire

1. Hématologie (annexe 12)

Sur les 24 hématologies prévues, 19 ont été analysées.

Les résultats sont les suivants :

- **Leucocytes (figure 3) :**

- T0 :

- Moyenne des inoculés (n=5) : $5,9 \cdot 10^9/L$ (minimum : $3,1 \cdot 10^9/L$ et maximum : $8,6 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $14,3 \cdot 10^9/L$ (minimum : $8,8 \cdot 10^9/L$ et maximum : $19,7 \cdot 10^9/L$)

- H0 :

- Moyenne des inoculés (n=4) : $4,4 \cdot 10^9/L$ (minimum : $3,1 \cdot 10^9/L$ et maximum : $6,6 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $10,8 \cdot 10^9/L$ (minimum : $5,3 \cdot 10^9/L$ et maximum : $16,2 \cdot 10^9/L$)

- H final :

- Moyenne des inoculés (n=4) : $2,9 \cdot 10^9/L$ (minimum : $1,8 \cdot 10^9/L$ et maximum : $4 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $10,9 \cdot 10^9/L$ (minimum : $5,4 \cdot 10^9/L$ et maximum : $16,3 \cdot 10^9/L$)

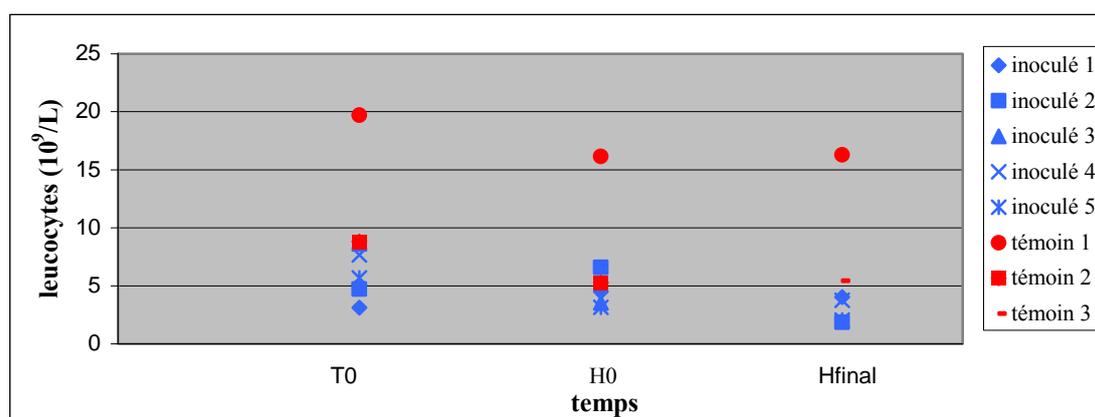


Figure 3 : évolution des leucocytes

- **Neutrophiles totaux (figure 4):**

- T0 :

- Moyenne des inoculés (n=5) : $1,7 \cdot 10^9/L$ (minimum : $0,97 \cdot 10^9/L$ et maximum : $3,4 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $5,25 \cdot 10^9/L$ (minimum : $5,18 \cdot 10^9/L$ et maximum : $5,3 \cdot 10^9/L$)
-

- H0 :

- Moyenne des inoculés (n=4) : $2,93 \cdot 10^9/L$ (minimum : $0,54 \cdot 10^9/L$ et maximum : $5,2 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $7,1 \cdot 10^9/L$ (minimum : $2,7 \cdot 10^9/L$ et maximum : $11,4 \cdot 10^9/L$)

- H final :

- Moyenne des inoculés (n=4) : $1,5 \cdot 10^9/L$ (minimum : $0,43 \cdot 10^9/L$ et maximum : $2,84 \cdot 10^9/L$)
- Témoins (n=1) : $2,65 \cdot 10^9/L$

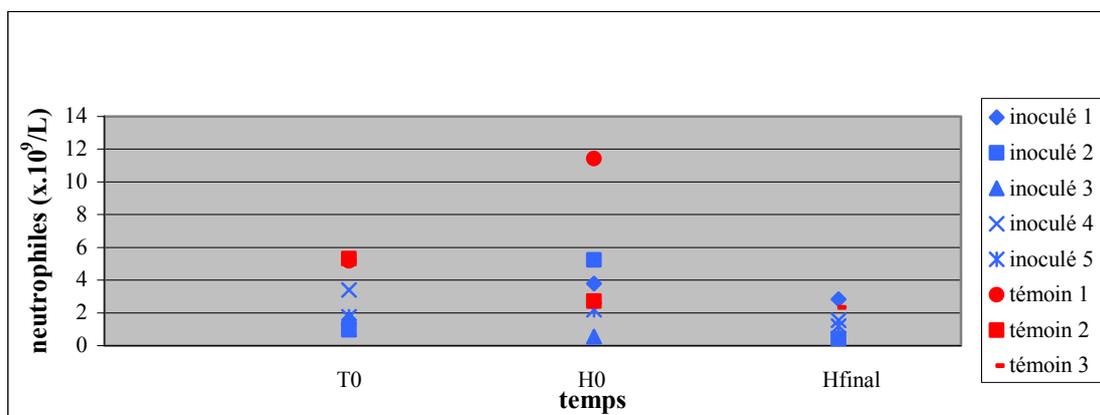


Figure 4 : évolution des polynucléaires neutrophiles

- **Plaquettes (figure 5) :**

- T0 :

- Moyenne des inoculés (n=5) : $322 \cdot 10^9/L$ (minimum : $262 \cdot 10^9/L$ et maximum : $418 \cdot 10^9/L$)
- Moyenne des témoins (n=2) : $385 \cdot 10^9/L$ (minimum : $236 \cdot 10^9/L$ et maximum : $533 \cdot 10^9/L$)

- H0 :
 - Moyenne des inoculés (n=4) : $192.10^9/L$ (minimum : $112.10^9/L$ et maximum : $240.10^9/L$)
 - Moyenne des témoins (n=2) : $410.10^9/L$ (minimum : $305.10^9/L$ et maximum : $515.10^9/L$)

- H final :
 - Moyenne des inoculés (n=4) : $118.10^9/L$ (minimum : $34.10^9/L$ et maximum : $184.10^9/L$)
 - Moyenne des témoins (n=2) : $372.10^9/L$ (minimum : $254.10^9/L$ et maximum : $489.10^9/L$)

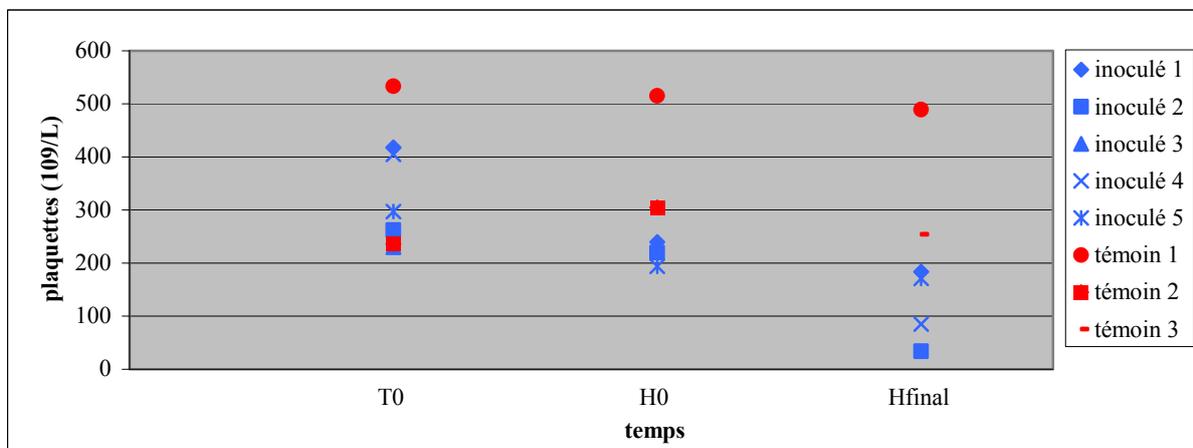


Figure 5 : évolution des plaquettes

2. Gaz sanguin (annexe 13)

Le pH sanguin était normal à élevé chez les veaux inoculés 1, 2 et 5 et chez tous les veaux témoins. Deux des veaux inoculés (inoculés 3 et 4) étaient acidémiques après le début des signes cliniques (figure 6).

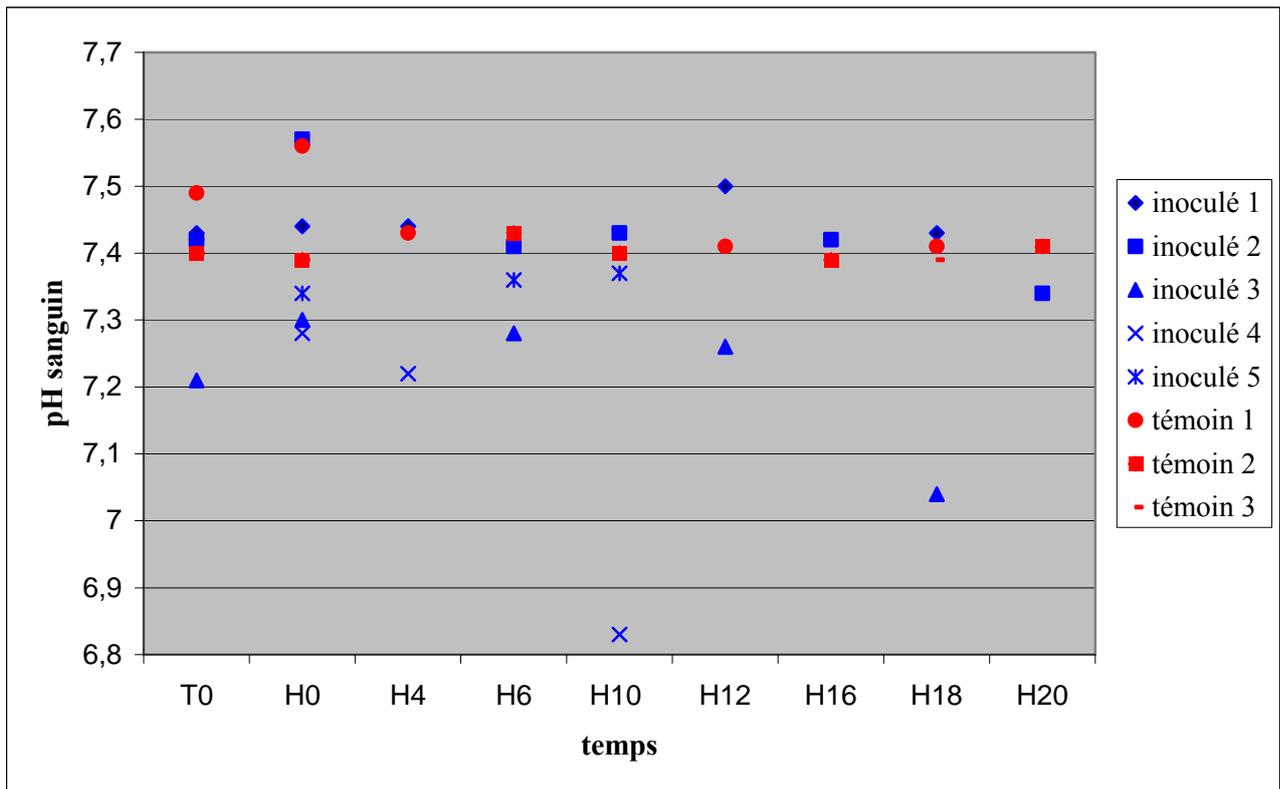


Figure 6 : évolution du pH sanguin

La bicarbonatémie était élevée chez tous les témoins et normale à élevée chez les inoculés même après l'apparition des signes cliniques (figure 7). Chez 3 des 5 veaux inoculés (inoculés 2, 3 et 4), la bicarbonatémie a diminué légèrement, en atteignant un minimum de 22,4 mmol/l.

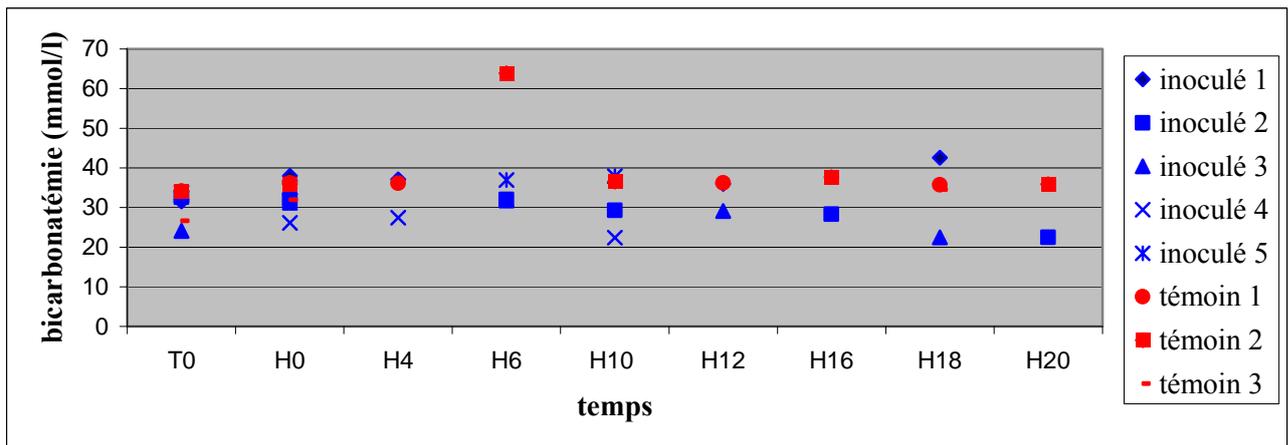


Figure 7 : évolution de la bicarbonatémie

La pCO₂ a tendance à augmenter autant chez les témoins que chez les inoculés, en atteignant parfois des valeurs très hautes (figure 8).

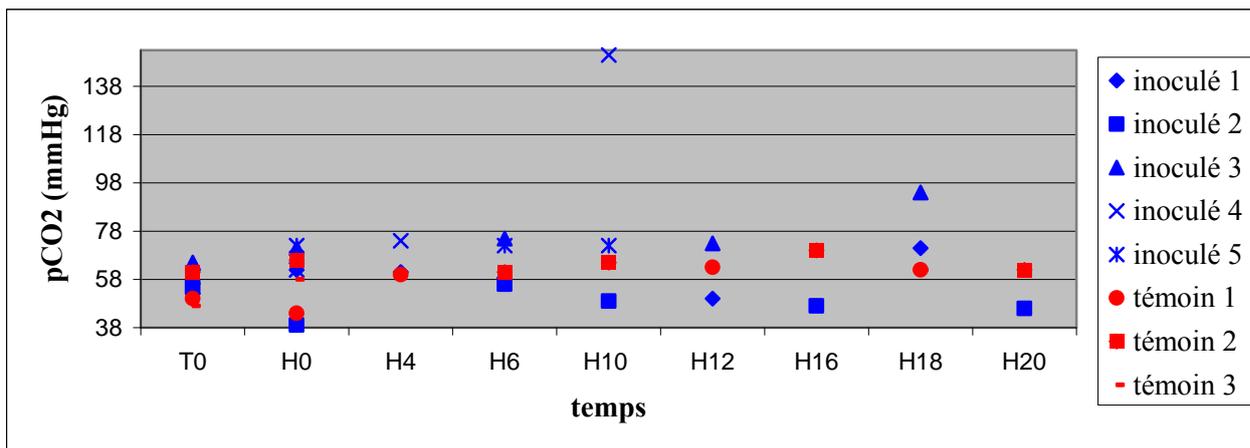


Figure 8 : évolution de la pCO2

La natrémie était élevée chez tous les animaux, comprise entre 145 et 165 mmol/L, atteignant une fois 180 mmol/L (figure 9).

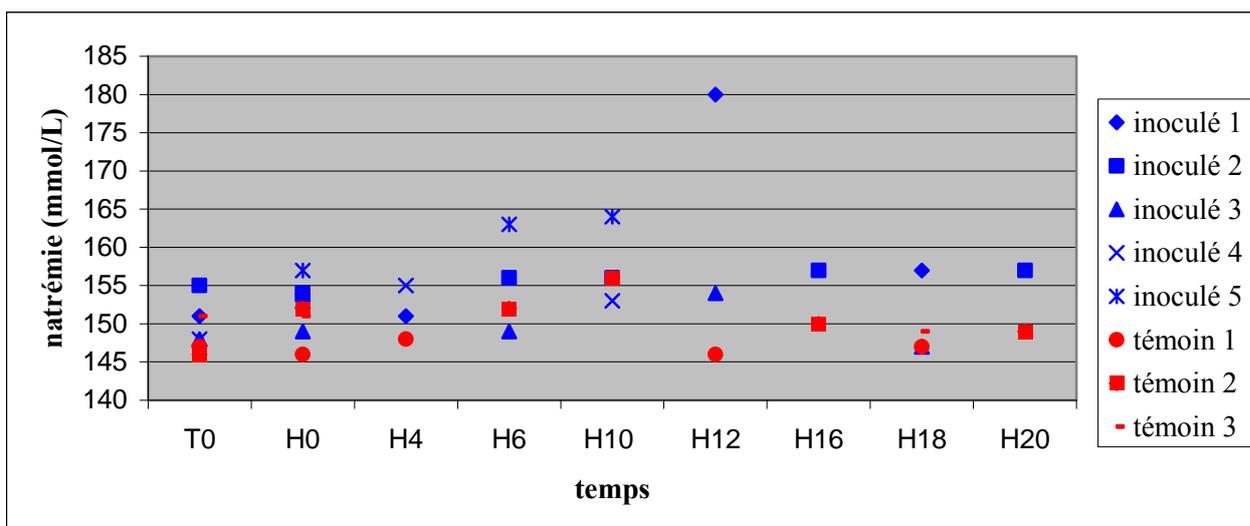


Figure 9 : évolution de la natrémie

Le potassium est resté globalement dans les valeurs usuelles (3,8-5,8 mmol/L), élevé sur un animal à l'agonie au moment du prélèvement.

Les chlorures étaient dans des valeurs normales à hautes (98 à 114 mmol/L).

3. Biochimie urinaire (annexe 14)

Chez les témoins, les pH urinaires ont été croissants (pH allant jusqu'à plus de 8).

Chez les veaux inoculés, 4 (inoculés 2, 3, 4 et 5) étaient aciduriques (pH<7) après le début des signes cliniques et pour un veau (inoculé 1) le pH urinaire était compris entre 7 et 8 après le début des signes cliniques.

La corrélation entre le pH urinaire et le pH sanguin était $R^2 = 0,66$.

Une glycosurie a été notée chez la plupart des veaux (témoins ou inoculés).

Une réaction positive vis-à-vis des nitrites a été observée sur un veau (inoculé 1) et une réaction positive vis-à-vis des leucocytes sur un autre veau (inoculé 3). Les réactions aux nitrites ou aux leucocytes des veaux témoins ont été négatives.

Chez les témoins, la réactivité à l'hématurie était fortement positive sur un seul prélèvement (témoin 2 à H16) sur 14 réalisés. Chez les inoculés, elle était

- faiblement positive sur un seul prélèvement à T0 (inoculé 1 et négatives sur les autres à T0)
- fortement positive sur 9 des 14 analyses urinaires après le début des signes de septicémie.

Toutes les réactions de Heller effectuées ont été négatives.

IV. Bactériologie (annexes 15, 15bis et 16)

1. Bactériémie : hémoculture et bactériologie du foie et du rein

a. Veaux inoculés (n=5)

Sur les veaux inoculés, 25 hémocultures ont été réalisées.

Sur les 5 veaux inoculés, au moins trois hémocultures ont été positives (tableau 4).

- **Bactériologie positive à *Escherichia coli***

Sur les 5 veaux inoculés, au moins trois hémocultures ont été positives pour *E. coli* après le début des symptômes (H0).

Sur ces 5 veaux une souche de *E. coli* a été isolée dans le foie et le rein.

- **Bactériologie positive à *Escherichia coli* O78**

Sur 4 des 5 veaux inoculés, au moins 2 hémocultures ont été positives pour *E. coli* O78 avec l'isolement d'*E. coli* O78 dans le foie et le rein.

Sur 1 des 5 veaux inoculés (inoculé 4), tous les prélèvements (sang, urine, fèces, foie ou rein) ont été négatifs pour *E. coli* O78.

- **Bactériologie positive à *Escherichia coli* non O78**

Sur 2 des 5 veaux (inoculés 2 et 4), au moins trois hémocultures ont été positives pour une souche d'*E. coli* non O78, après le début des symptômes.

- **Bactériologie positive à *Klebsiella* spp.**

Sur 2 des 5 veaux (inoculés 3 et 4), 4 hémocultures ont été positives pour *Klebsiella* spp. à partir du début des symptômes, avec l'isolement de *Klebsiella* spp. dans le foie et le rein.

Sur le veau inoculé 3, *E. coli* O78 a été isolé du sang, du foie et du rein. Sur le veau inoculé 4, une souche d'*E. coli* non O78 a été isolée du sang, du foie et du rein.

- **Autres**

Sur le veau inoculé 2, un seul prélèvement de sang à T0 a permis l'isolement de *Citrobacter* spp. et d'*Aeromonas* spp.

Tableau 4 : Résultats synthétiques des hémocultures

	Inoculation (T0)		Heures après le début des symptômes										
			0		0 à 6		6 à 12		12 à 18		> 18		
	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	
nombre de veaux	5	3	5	3	5	3	5	3	3	3	1	1	
nombre de prélèvements	5	3	5	3	5	3	6	3	3	3	1	1	
Identification <i>E. coli</i>	absence	5	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	1
	présence	0	0	5	0	5	0	6	0	3	0	1	0
<i>E. coli</i>	O 78 positif	0	0	2	0	3	0	3	0	3	0	1	0
Autres*	<i>Klebsiella</i> spp.	0	0	2	0	2	0	3	0	1	0	1	0

I : inoculé ; T : témoin ; * seuls les résultats de *Klebsiella* spp. sont reportés

b. Veaux témoins (n=3)

Sur les veaux témoins, 16 hémocultures ont été réalisées.

Tous les isolements réalisés à partir du sang, du foie ou du rein ont été négatifs, sauf pour le veau témoin 3 où a été mis en évidence à partir d'une hémoculture *Enterobacterium cloacae*.

2. Bactériurie et association avec la bactériémie

a. Veaux inoculés (n=5)

Sur les 25 prélèvements urinaires 18 ont été fructueux.

4 des 5 prélèvements à T0 ont été fructueux, ils ont tous été négatifs.

- **Bactériologie positive pour *Escherichia coli***

Les isolements à partir de l'urine à T0 ont tous été négatifs, avec un dénombrement d'*E. coli* < 100 UFC/mL (tableau 5).

Sur 4 des 5 veaux inoculés (1 à 4), au moins deux prélèvements urinaires étaient positifs pour *E. coli* et une forte augmentation du dénombrement des *E. coli* a été observée après le début des symptômes, avec au moins un prélèvement ayant un dénombrement supérieur à 10⁴ UFC/mL d'urine (valeur maximale : 30.10⁶ UFC/mL).

Sur le veau inoculé 5, un seul prélèvement à la mort de l'animal a permis d'isoler *E. coli* avec un dénombrement faible (100 UFC/mL).

- **Bactériologie positive pour *Escherichia coli* O78**

Les résultats des typages *E. coli* O78 dans les urines ont été hétérogènes.

Parmi les 4 veaux inoculés avec des isolements positifs pour *E. coli* O78 à partir du sang, du foie et du rein (inoculés 1, 2, 3 et 5), sur 2 veaux (inoculés 1 et 3) *E. coli* O78 a été isolée à partir de l'urine et sur 2 autres (inoculés 2 et 5) une souche d'*E. coli* non O78 a été isolée à partir de l'urine.

Sur le veau inoculé 4, avec des résultats à partir du sang, du foie et du rein négatifs pour *E. coli* O78, aucun isolement d'*E. coli* O78 n'a été observé à partir de l'urine.

- **Bactériologie positive pour *Escherichia coli* non O78**

Chez les deux veaux (inoculés 2 et 4) chez qui plusieurs hémocultures étaient positives vis-à-vis d'*E. coli* non O78, au moins deux cultures urinaires étaient positives vis-à-vis d'*E. coli* non O78, après le début des signes de septicémie.

- **Bactériologie positive à *Klebsiella* spp.**

Sur les 2 veaux inoculés (n°3 et 4) avec des isollements de *Klebsiella* spp. à partir du sang, du foie et du rein, tous les prélèvements urinaires étaient positifs vis-à-vis de *Klebsiella* spp. après le début des signes cliniques et négatifs à T0.

- **Bilan**

Tableau 5 : Résultats synthétiques des hémocultures et des bactériologies urinaires

		Inoculation (T0)		Heures après le début des symptômes										
				0		0 à 6		6 à 12		12 à 18		> 18		
		I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	I	T	
S A N G	nombre de veaux	5	3	5	3	5	3	5	3	3	3	1	1	
	nombre de prélèvements	5	3	5	3	5	3	6	3	3	3	1	1	
	<i>E. coli</i>	absence	5	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	1
		présence	0	0	5	0	5	0	6	0	3	0	1	0
		O 78 +	0	0	2	0	3	0	3	0	3	0	1	0
Autres*	<i>Klebsiella</i> spp.	0	0	2	0	2	0	3	0	1	0	1	0	
U R I N E	nombre de prélèvements	4	2	3	3	2	2	5	3	3	3	2	1	
	dénombrement	< 100/g	4	2	1	3	1	2	1	2	0	2	0	1
		10 ³ - 10 ⁵ /g	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0
		> 10 ⁵ /g	0	0	2	0	1	0	4	0	2	1	2	0
	<i>E. coli</i>	absence	4	2	1	3	0	2	1	2	0	2	0	1
		présence	0	0	2	0	2	0	4	1	3	1	2	0
		O 78 +	0	0	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0
	Autres*	<i>Klebsiella</i> spp.	0	0	1	0	0	0	2	0	1	0	1	1

I : inoculé ; T : témoin ; * seuls les résultats de *Klebsiella* spp. sont reportés

Chez les inoculés, après le début des symptômes (H0), sur 11 des 15 couples de prélèvements sang/urine (soit 73 %), la (ou les) même(s) bactérie(s) a (ou ont) été isolée(s).

Pour 2 des 15 couples de prélèvements une bactérie différente a été isolée à partir de l'urine et du sang. Pour 2 des 15 couples de prélèvements, l'urine était stérile alors que l'hémoculture était positive.

Pour 2 des 5 veaux inoculés (n°1 et 3), les résultats d'isolement ont évolué au cours du temps :

- pour le veau inoculé 1, l'urine était stérile à H0 puis les isollements urinaires ont été positifs

- pour le veau inoculé 3, l'urine était positive à H0 vis-à-vis d'une souche d'*E. coli* non O78 (avec une hémoculture positive à *E. coli* non O78) puis les résultats urinaires ont été positifs vis-à-vis d'*E. coli* O78 (avec des hémocultures positives pour *E. coli* O78).

b. Veaux témoins (n=3)

Sur 2 des 3 veaux témoins, l'isolement urinaire était négatif pour tous les prélèvements (n=11).

Sur un des 3 veaux témoins (témoin n°1), l'isolement d'*E. coli* à partir de l'urine a été négatif pour les deux premiers prélèvements (T0 et H0) et positif avec un dénombrement d'*E. coli* supérieur à 10^5 UFC/mL pour les deux derniers (H12 et H18). Le 3^{ème} prélèvement (H4) de ce veau a été qualifié de très difficile et infructueux, l'animal ayant beaucoup bougé (annexe 14).

3. Bactériologie sur fécès (annexe 15, 15bis et 16)

Sur tous les veaux (inoculés et témoins), *E. coli* et/ou de *Klebsiella* spp. a (ont) été isolé(s) à partir d'au moins un prélèvement.

Sur 3 des 5 veaux inoculés, *E. coli* O78 a été identifié dans les fécès.

Sur 2 veaux inoculés, il a été possible de détecter un Rotavirus, sur un inoculé un Coronavirus et sur un autre une salmonelle et un *E. coli* F5.

V. Test Uriscreeen (annexe 14)

Sur 43 tentatives de ponctions vésicales, 33 ont été fructueuses (77%).

- **Concordance entre le test Uriscreeen et le dénombrement d'*E. coli* (avec comme seuil de positivité 1000 UFC/mL) :**

Sur 29 des 33 ponctions vésicales fructueuses, les résultats ont été concordants entre le dénombrement d'*E. coli* et le test Uriscreeen. La concordance (= accords entre dénombrement urinaire et test Uriscreeen / (accords + désaccords)) est alors de **0,89**.

Les 4 résultats restants correspondent à :

- 2 tests Uriscreen négatifs, associés à un dénombrement d'*E. coli* élevé dans l'urine ($2 \cdot 10^6$ UFC/mL pour l'inoculé 2 à H0 et $1,5 \cdot 10^6$ UFC/mL pour le témoin 1 à H18).
- 2 tests Uriscreen positifs, associés à un isolement négatif dans l'urine (inoculé 1 à H4 et témoin 2 à H16).

Sur 3 des 33 prélèvements le test Uriscreen était positif avec un dénombrement d'*E. coli* inférieur à 50 000 UFC/mL (extrêmes 9000 et 15000 UFC/mL). Sur 2 de ces 3 prélèvements, *Klebsiella* spp. a été isolé.

- **Concordance entre le test Uriscreen et la bactériémie (le témoin n°1 étant exclu) :**

Sur 29 prélèvements où il est possible de comparer les résultats, 25 ont été concordants. Ce qui donne une concordance de **0,86**.

Les 4 résultats restants correspondent à :

- 3 tests Uriscreen négatifs alors que l'hémoculture était positive (inoculé 1 à H0, inoculé 2 à H0 et inoculé 5 à H9)
- 1 test Uriscreen positif chez le témoin 2 à H16 où l'hémoculture était négative.

Tableau 6 : résultats comparés des isollements bactériens avec dénombrement des *E.coli* et du test Uriscreen®, réalisés à partir de l'urine des veaux inoculés et témoins.

		Heure de la ponction vésicale					
		Inoculation (T0)	Début des symptômes (H0)	H4	H12	H18*	
Inoculé 1	Culture <i>E. coli</i> (UFC/mL)	<100	<100	<100	> 30. 10 ⁶	8,7 10 ⁶	
	Autres	abs	abs	abs	abs	abs	
	Uriscreen	0	0	++	++	+	
Témoin 1	Culture (UFC/mL)	<100	<100	NR	10 ⁵	1,5.10 ⁶	
	Autres	abs	abs		abs	abs	
	Uriscreen	0	0		+	0	
		T0	H0	H6	H10	H16	H20*
Inoculé 2	Culture (UFC/mL)	<100	2.10 ⁵	2.10 ⁵	> 1,5. 10 ⁶	9. 10 ³	1,5. 10 ⁶
	Autres	abs	abs	abs	abs	abs	abs
	Uriscreen	0	0	+	+	+	+
Témoin 2	Culture (UFC/mL)	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	Autres	abs	abs	abs	abs	abs	abs
	Uriscreen	0	0	0	0	+	0
		T0	H0	H6	H12	H18	H23*
Inoculé 3	Culture <i>E. coli</i> (UFC/mL)	NR	2. 10 ⁵	NR	NR	>1.10 ⁵	>1. 10 ⁵
	Autres		Kleb.			Kleb.	Kleb.
	Uriscreen		++			++	+
Témoin 3	Culture (UFC/mL)	NR	<100	<100	<100	<100	NR
	Autres		abs	abs	abs	abs	
	Uriscreen		0	0	0	0	
		T0	H0	H4	H7	H10*	
Inoculé 4	Culture <i>E. coli</i> (UFC/mL)	<100	NR	NR	7,7.10 ³	1,5. 10 ⁴	
	Autres	abs			Kleb.	Kleb.	
	Uriscreen	0			+	+	
		T0	H0	H6	H9*		
Inoculé 5	Culture <i>E. coli</i> (UFC/mL)	<100	NR	NR	100		
	Autres	abs			abs		
	Uriscreen	0			0		

Les cultures dont le dénombrement est < 1000 UFC/mL sont considérées comme négatives

* : heure de mort abs : absence de germes ; NR : non réalisé Notes : 0 = négatif ; + = positif faible ; ++ = positif fort

|

|

III. Discussion

I. Matériels et méthodes

1. Inclusion des animaux

Les femelles ont été exclues pour des raisons d'approvisionnement et du risque supérieur, par rapport aux mâles, de contracter une infection urinaire ascendante.

Aucune différence n'a été détectée entre les veaux des deux groupes inoculés et témoins, lors de l'inclusion : bon état général, BVD négatifs, pas d'absorption de colostrum à la ferme, statuts en oligoéléments identiques.

L'ingestion de colostrum est un facteur d'échec lors d'infections expérimentales, même si l'immunité n'est pas spécifique [10], de fait nous n'avons pas donné de colostrum aux inoculés.

Chez tous les veaux inoculés, une septicémie a été facilement obtenue. Cependant, en raison de l'absence de distribution de colostrum, chez certains veaux une septicémie s'est développée avec des bactéries (*Klebsiella* spp. et *E. coli* nonO78) différentes de celle de l'inoculum (*E. coli* O78). Ces entérobactéries ont probablement franchi la barrière digestive avant la souche inoculée. Cet échec de l'infection expérimentale à *E. coli* O78 ne remet toutefois pas en question les objectifs poursuivis (existence d'une bactériurie et évaluation du test Uriscreen dans la détection d'une septicémie).

Chez les veaux témoins, aucune bactériémie n'a été observée, en raison de la distribution de colostrum.

2. Alimentation des veaux

Le soluté Energaid® (annexe 17) a été retenu pour ses qualités réhydratantes (afin de faciliter les ponctions vésicales) et énergétique.

L'utilisation de ce soluté à la place du lait permettait de réduire le risque de contamination exogène par l'alimentation.

Par ailleurs, le lait possède des systèmes antimicrobiens (système lactoperoxydase et lactoferrine), dont l'efficacité démontrée lors de diarrhée colibacillaire [20, 28, 42], aurait pu protéger les veaux vis-à-vis de la septicémie.

3. Technique d'inoculation

L'administration par voie orale d'une solution de bicarbonate de sodium à 1,4% vise à limiter l'acidité gastrique et la destruction des bactéries de l'inoculum dans la caillette.

Le délai naissance-inoculation était dépendant de l'heure de naissance du veau et de la disponibilité de l'inoculum. Un délai long, associé à des conditions en élevage difficilement maîtrisables, a pu contribuer, chez certains veaux, à une septicémie due à des bactéries autres que *E. coli* O78. Toutefois lors de bactériémie à *Klebsiella* spp., le délai naissance-inoculation a été très court (8,5h pour l'inoculé 3) ou long (32 h pour l'inoculé 4).

4. Prélèvements

a. Technique de prélèvement sanguin et urinaire

- **Faisabilité :**

Les prélèvements sanguins ont tous été facilement réalisables et il est faisable d'appliquer en conditions de terrain pour un vétérinaire praticien les conditions d'asepsie que nous avons instauré. Les problèmes restent le coût de l'hémoculture ainsi que le délai d'obtention du résultat.

Les prélèvements urinaires ont été plus délicats. 77% des ponctions vésicales se sont avérées fructueuses, or nous nous sommes efforcés de sur hydrater les animaux. Ainsi la cystocentèse peut s'avérer délicate en conditions de terrain sur un veau très déshydraté.

- **Innocuité :**

L'innocuité de notre technique de ponction sanguine et urinaire est correcte au vu du nombre important de ponctions par animal ainsi que l'absence de lésion significative lors des autopsies réalisées.

Cependant il est à noter qu'il est toujours possible de ponctionner, lors de ponction transabdominale, une autre structure que la vessie, en particulier une anse intestinale.

Sur un des trois veaux témoins (témoin 1), l'isolement urinaire a été positif à H12 et H18. L'hypothèse la plus probable est une contamination antérieure de la vessie par l'aiguille à partir d'une anse intestinale. En effet, l'animal a beaucoup bougé pendant le prélèvement à H4.

- **Qualité :**

La distinction entre une contamination et une bactériémie réelle nécessite plusieurs hémocultures. Une bactérie peut être considérée comme l'agent de la bactériémie si on la retrouve à partir d'au moins deux hémocultures différentes [47].

Chez le témoin 3 (à H12) et chez l'inoculé 2 (à T0) les hémocultures positives (respectivement *Enterobacter* et à *Citrobacter / Aeromonas*), qui sont des résultats isolés, peuvent être considérées comme des contaminations.

Au vu des contaminations minimales vis-à-vis des prélèvements sanguins, le protocole retenu dans cet essai permet d'interpréter le résultat de l'hémoculture comme un reflet fidèle de la bactériémie.

L'absence d'isolement urinaire à T0 (témoins et inoculés) et sur 12 des 14 prélèvements chez les témoins, suggère que la technique de ponction vésicale par voie transabdominale est correcte sur le plan de l'asepsie. Avec cette technique de prélèvement, le risque de contamination semble très faible à nul. Une culture positive à partir de l'urine peut être considérée comme un bon indicateur de la bactériurie.

La définition d'un dénombrement positif, lorsque celui-ci est supérieur ou égal à 1000 UFC/mL, avait déjà été utilisée chez les carnivores domestiques [15].

Pour l'urine, la ponction transabdominale de la vessie a été préférée à la miction spontanée car elle permet d'appliquer des conditions d'asepsie identiques à celles prises pour les hémocultures. Par ailleurs le cathétérisme de l'urètre n'est pas réalisable chez le veau mâle en raison de l'anatomie du pénis (S pénien).

Le risque d'une contamination par voie ascendante est très peu probable en raison du sexe des animaux (les mâles n'étant pas prédisposés à une infection urinaire ascendante) et de l'état d'hyperhydratation (mictions spontanées fréquentes).

Ces conditions autorisent la comparaison directe des couples bactériologiques (sang et urine).

b. Technique d'isolement et d'identification bactérienne

Pour les hémocultures, l'utilisation d'un milieu de culture (Hémoline Performance Diphasique®) ainsi que la mise à l'étuve a permis d'optimiser l'isolement bactérien et ainsi la détection des bactériémies [47].

De même l'utilisation d'un bouillon BUSP au laboratoire a permis d'augmenter la sensibilité de l'isolement bactérien.

Les germes anaérobies stricts n'ont pas été recherchés car ce sont des bactéries rarement incriminées lors de septicémie du veau nouveau-né [19, 30].

II. Signes cliniques

L'utilisation de la grille clinique semble appropriée au diagnostic de la septicémie. Une nette diminution du score clinique a été observée après H0. Cependant, plusieurs heures avant le début des symptômes (H0), le score clinique est proche du seuil utilisé (11/15) et d'autres signes de septicémie étaient parfois présents (arthrite, fièvre, modification des vaisseaux de la sclère). De plus les résultats d'hémoculture étaient pour la plupart positifs dès le début des symptômes. Il est donc possible que la septicémie ait commencé avant le moment retenu par l'opérateur (H0).

Les scores cliniques secondaires ont une évolution semblable à celle du score clinique principal mais de manière moins marquée. Les signes cliniques inclus dans ce score secondaire sont donc liés à la septicémie mais sont moins discriminants que ceux utilisés dans le score principal.

Dans une autre étude expérimentale [34] utilisant le même score clinique et le même inoculum sur des animaux privés de colostrum, le délai inoculation/début des symptômes variait fortement (de 6 à 30 heures), de même que le délai début des symptômes/mort (de 3 à 25 heures). Les durées observées ici sont légèrement plus longues et peuvent être expliquées par les hypothèses suivantes :

- la buvée d'une solution réhydratante peut décaler la diminution du score clinique en améliorant l'état général de l'animal
- l'euthanasie des veaux à l'agonie peut légèrement réduire le délai début des symptômes/mort.

Dans l'étude précédemment citée [34], la diarrhée semble apparaître en phase terminale. La diarrhée apparaît ici souvent avant H0; la forte stimulation des veaux à boire une solution réhydratante a pu entraîner l'apparition précoce d'une diarrhée alimentaire.

La température rectale a été décrite comme l'élément le moins prédictif de la septicémie [34], néanmoins une augmentation notable de la température a été observée dans la phase des signes cliniques.

III. Hématologie et biochimie sanguine et urinaire

1. Hématologie

Chez les veaux nouveaux-nés en conditions normales, la concentration des neutrophiles sanguins d'abord plus élevée diminue après quelques jours de vie. A l'inverse le nombre de lymphocytes est plutôt bas puis augmente (tableau 7).

Tableau 7 : valeurs hématologiques usuelles du veau [1]

	24 h	48 h	3-4 semaines
Leucocytes ($10^9/L$)	9,81 ± 2,80	7,76 ± 1,95	8,65 ± 1,69
Neutrophiles totaux ($10^9/L$)	6,50 ± 2,66	4,11 ± 2,04	2,92 ± 1,14
Neutrophiles non segmentés ($10^9/L$)	0,31 ± 0,46	0,21 ± 0,45	0,01 ± 0,03
Lymphocytes ($10^9/L$)	2,73 ± 0,82	2,85 ± 0,88	5,05 ± 0,80
Plaquettes ($10^9/L$)	non évalué	non évalué	non évalué

Chez 4 des 5 veaux inoculés, la leucopénie et la neutropénie observées après le début des signes cliniques sont compatibles avec la septicémie. Chez 2 des veaux inoculés, une neutropénie est déjà observée à T0, ce qui traduit une réponse de l'organisme face à un agent infectieux avant même l'apparition de signes cliniques, en effet les inoculés n'ont pas reçu de colostrum et sont donc très sensibles aux infections.

Chez 2 des 5 veaux inoculés (n°1 et 2), le nombre normal de neutrophiles à H0 s'explique en partie par le stress du transport. Toutefois la proportion des neutrophiles segmentés et non segmentés n'a pas été évaluée, ce qui rend l'interprétation délicate. Une proportion élevée de neutrophiles non segmentés, donc immatures, et normale de neutrophiles totaux, suggèreraient une réaction du système immunitaire face à un agent infectieux.

Chez les inoculés, la chute des plaquettes pourrait s'expliquer par une CIVD (coagulation intravasculaire disséminée) consécutive à l'endotoxémie.

2. Biochimie sanguine

Les résultats des biochimies sanguines sont attribuables aux effets de la septicémie et aux effets du réhydratant oral.

La tendance à l'alcalose métabolique (bicarbonatémie augmentée) pourrait être attribuée à l'Energaid® (annexe 17). Cette solution réhydratante contient en effet des agents tampons (citrate, propionate et acétate); 2 litres d'une solution d'Energaid® reconstituée contient l'équivalent de 186 mmol de bicarbonates.

Chez 2 veaux, l'acidose pourrait provenir d'une part de l'augmentation de L-lactates, inhérente au manque de perfusion tissulaire (hypovolémie), et d'autre part de la perte d'électrolytes et de bicarbonates dans la diarrhée.

L'hypernatrémie observée (145 à 165 mmol/L) pourrait être liée aux teneurs élevées en sodium de l' Energaid® (133 mmol/L de solution reconstituée), combinée à l'absence d'eau à disposition dans les box et à la déshydratation. L'hypernatrémie, au-delà de 165 mmol/L, peut entraîner des signes cliniques (abattement, diminution de l'appétit, du réflexe de succion, des signes nerveux comme un syndrome cortical ou des convulsions) engendrant une confusion avec les signes de la septicémie [2].

3. Biochimie urinaire

L'alcalurie des témoins est à relier à l'alcalose métabolique (bonne corrélation entre le pH urinaire et le pH sanguin ($R^2 = 0,66$)).

La glucosurie peut être liée à une hyperglycémie, elle-même due aux apports de dextrose par l'Energaid®, aux effets du choc endotoxinique et septique, et à l'hypercortisolémie de la mise-bas et du stress du transport.

Les réactions des nitrites et des leucocytes à la bandelette et la réaction de Heller ne sont pas de bons indicateurs de la bactériurie.

Compte tenu de l'absence quasi-totale, chez les témoins et chez les inoculés à T0, de réactivité à l'hématurie sur la bandelette urinaire, et la présence dans 64 % des prélèvements chez les inoculés après le début des signes cliniques, une érythrocyturie a pu être présente chez les animaux septicémiques [44].

IV. Bactériémie et septicémie

Chez l'Homme l'interprétation des hémocultures répond à différents cas [47] :

- plusieurs hémocultures positives :
 - même espèce bactérienne et contexte clinique évocateur : le pathogène isolé est à l'origine de la septicémie.
 - bactéries différentes : bactériémies polymicrobiennes fréquemment observées lors d'infection grave de patients immunodéprimés.
- une seule hémoculture positive : résultats à interpréter en fonction de la bactérie isolée.

Sur 5 des 5 veaux inoculés la bactériémie est attribuable à *Escherichia coli* :

- 4 des 5 veaux à *E.coli* O78 (inoculés 1, 2, 3 et 5)
- 2 des 5 veaux à *E. coli* non O78 (inoculés 2 et 4)

Sur 3 des 5 veaux inoculés la bactériémie peut être considérée comme polymicrobienne :

- 1 des 5 veaux à *E. coli* O78-/*E. coli* O78+ (inoculé 2)
- 1 des 5 veaux à *E. coli* O78+/*Klebsiella* (inoculé 3)
- 1 des 5 veaux à *E. coli* O78-/*Klebsiella* (inoculé 4)

Sur 2 des 5 veaux inoculés (inoculés 1 et 5), la bactériémie a été monomicrobienne (*E. coli* O78).

Tous ces résultats sont confirmés avec l'isolement de ces souches dans le foie et le rein, à l'autopsie.

Sur 1 des 5 veaux inoculés (veau n°4), la souche inoculée (*E. coli* O78) n'a pas induit de septicémie (isolements à partir du sang, de l'urine, des fécès, du foie ou du rein négatifs). En raison du délai naissance – inoculation long (32 heures), l'hypothèse la plus probable est qu'une contamination par une autre bactérie de l'environnement a eu lieu avant l'inoculation et a conduit à une septicémie. De plus un état de résistance, observé naturellement vers 48 heures d'âge, s'explique par la diminution de l'activité de pinocytose de la muqueuse intestinale et par le développement d'une flore intestinale empêchant l'implantation des souches pathogènes (effet barrière) [14].

Une mutation de la souche inoculée (potentiel de mutation important [37]) pourrait avoir eu lieu, en effet le typage O78 d'*E. coli* sur les fécès était négatif à T0, H0 et H final.

V. Bactériurie et bactériémie

L'interprétation de la bactériurie doit se faire en fonction de la technique de prélèvement (cystocentèse, cathétérisme urétral ou miction) et du dénombrement bactérien [15, 36]. Afin de permettre la différenciation entre des germes contaminants et pathogènes, des notions de seuil de positivité de la numération bactérienne et de bactériurie significative ont été introduites. La valeur du seuil de positivité dépend de l'espèce et surtout du mode de prélèvement urinaire. Plus la technique employée est à risque de contamination, plus le seuil de positivité est élevé. Ainsi, chez les carnivores domestiques, l'interprétation d'un échantillon d'urine prélevé par cystocentèse, se fait de la manière suivante [15, 36] :

- < 100 UFC/mL : bactériurie non significative
- 100 à 1000 UFC/mL : résultat douteux
- > 1000 UFC/mL : bactériurie significative

1. Lien entre septicémie et bactériurie, quelque soit la bactérie

L'interprétation se base sur l'isolement bactérien puisque nous ne disposons pas du dénombrement de *Klebsiella* spp.

Chez 4 des 5 veaux inoculés (n°1 à 4), il a été possible d'isoler, sur au moins deux prélèvements, une ou plusieurs bactéries (*E. coli* ± *Klebsiella* spp.). De plus les prélèvements urinaires à T0 de ces animaux étaient tous négatifs. Ainsi une bactériurie était présente chez ces 4 veaux. Or nous avons montré que ces animaux étaient bactériémiques pour la ou les même(s) bactérie(s) retrouvée(s) dans l'urine. Enfin chez 2 des 3 veaux témoins, aucun isolement (à partir du sang, de l'urine, du foie ou du rein) n'a pu être possible (chez le dernier témoin, l'urine a été contaminée de façon iatrogène donc peut être exclu de l'interprétation). Ces éléments sont donc en faveur du lien bactériémie-bactériurie.

Chez ces 4 veaux inoculés (n°1 à 4) présentant une bactériurie à une souche d'*E. coli* (souche O78 ou non O78), un dénombrement d'*E. coli* croissant et important (de 10^4 à 30.10^7 UFC/mL) est observé. Ces résultats de dénombrement sont bien supérieurs au seuil de positivité retenu dans les prélèvements réalisés par cystocentèse.

Chez un veau (inoculé 5), le dénombrement reste faible (100 UFC/mL) lors de la phase clinique. Ce résultat est douteux et ne peut pas être considéré avec certitude comme une bactériurie significative. Ce résultat peut être expliqué par la mort rapide de l'animal,

comparativement aux autres animaux. En effet chez les autres animaux, le dénombrement bactérien dans l'urine croit fortement avec le temps.

2. Lien entre septicémie et bactériurie, bactérie par bactérie

• Bactériurie à *E. coli* O78

Sur les 4 veaux ayant fait une bactériémie à *E. coli* O78 (n°1, 2, 3 et 5), seulement deux (inoculés n°1 et 3) ont été bactériuriques pour cette même bactérie. Les deux autres sont :

- l'inoculé 5 : qui est mort très rapidement et n'a peut-être pas eu le temps d'être bactériurique. En effet, chez ce veau, seul le dernier prélèvement montre l'isolement d'une souche d'*E. coli* non O78 avec un dénombrement très faible (100 UFC/mL). Ce qui pourrait aussi être expliqué par une contamination.
- l'inoculé 2 : ce veau était bactériémique pour une souche d'*E. coli* non O78 jusqu'à H10 puis à *E. coli* O78 jusqu'à sa mort. Or cet animal n'a présenté que des isolements urinaires positifs pour *E. coli* non O78. Ainsi il est possible que la bactériémie à *E. coli* O78 était trop tardive chez ce veau pour induire une bactériurie à *E. coli* O78.

Précisons que le veau inoculé n°4 qui n'a pas répondu au modèle septicémique à *E. coli* O78, n'a pas présenté de bactériurie pour cette bactérie.

• Bactériurie à *E. coli* non O78

Chez les 3 veaux inoculés (n° 2, 3 et 4), présentant une bactériémie pour une souche d'*E. coli* non O78, une bactériurie est observée pour cette bactérie.

• Bactériurie à *Klebsiella* spp.

Chez les 2 veaux inoculés (n° 3 et 4) présentant une bactériémie à *Klebsiella* spp., une bactériurie concomitante pour *Klebsiella* spp. est observée.

3. Bilan

Le lien entre bactériémie et bactériurie est suggéré par :

- les résultats simultanés (73 % des couples de prélèvements, chez les veaux inoculés, après le début des signes cliniques) entre bactériologies sur sang et urine pour *E. coli* O78, *E. coli* non O78 ou *Klebsiella* spp..
- l'absence de bactériologies urinaires positives chez ces mêmes veaux à T0.
- l'absence de bactériologies urinaires positives chez deux des trois témoins.

Divers résultats suggèrent que la bactériurie apparaît secondairement à la bactériémie. En effet, chez 2 des 5 veaux inoculés (n°1 et 3), *E. coli* O78 est présent dans le sang avant d'être présent dans l'urine. De plus chez l'inoculé n°2 la bactériémie à *E. coli* O78 est tardive (après H16), et nous n'avons pas retrouvé de bactériurie à *E. coli* O78. Nous avons par contre constaté une bactériurie à une souche d'*E. coli* non O78, souche pour laquelle l'animal était bactériémique au début de la phase clinique.

D'un point de vue physiopathogénique, le mécanisme est mal connu. Il a été émis l'hypothèse, en médecine humaine, de la formation de microabcès au niveau des reins suite à l'acheminement des bactéries par voie hématogène [27]. Des études sur le rein ont montré que des patients bactériémiques à *Staphylococcus aureus* présentaient fréquemment des abcès microscopiques dans le cortex rénal [35]. Ces lésions guérissent habituellement de façon spontanée et ne progressent pas vers la formation d'abcès macroscopiques [46]. Des histologies du rein auraient peut-être permis d'apporter quelques éléments de réponse.

VI. Test Uriscreen

L'objectif du test Uriscreen est de diagnostiquer une septicémie via la détection d'une bactériurie concomitante, grâce à l'activité catalase des bactéries et des cellules somatiques alors présentes dans l'urine.

Les résultats suggèrent une bonne concordance d'une part entre le test Uriscreen et le dénombrement d'*E. coli* dans les urines (concordance de 0,89 avec un seuil de positivité fixé à 1000 UFC/mL) et d'autre part entre le test Uriscreen et la bactériémie (concordance 0,86; le gold standard étant une hémoculture positive).

Pour le résultat de la concordance entre le test Uriscreen et la bactériémie, nous avons exclu le témoin n°1, dont l'hypothèse la plus probable relative aux dénombrements bactériens élevés dans l'urine ayant positivé le test Uriscreen, serait une contamination iatrogène de la vessie.

En prenant comme gold standard de la bactériurie un dénombrement d'*E. coli* supérieur à 1000 UFC/mL, l'essai a révélé 2 faux positifs et 2 faux négatifs sur 33 prélèvements.

Les faux positifs peuvent être expliqués par la présence de cellules somatiques dans l'urine (leucocytes ou érythrocytes). Ceci peut être lié à :

- la technique de prélèvement, l'aiguille apportant de très faibles quantités de sang ou de cellules vésicales. Ce qui expliquerait le résultat du prélèvement du témoin 2 à H16, qui présentait en plus une forte réactivité à l'hématurie sur la bandelette urinaire alors que tous les autres prélèvements de cet animal étaient négatifs.
- une érythrocyturie associée à la fièvre, comme elle l'est rapportée en médecine humaine chez l'enfant [44].
- la présence de cellules rénales, la septicémie pouvant entraîner une néphrite.
- la présence de cellules inflammatoires, sans que l'on ait pu isolé de germes en bactériologie.

Les faux positifs sont compatibles avec la spécificité moyenne du test [3, 11, 24, 32, 38, 39, 43, 44].

Les faux négatifs peuvent être expliqués par :

- une concentration en cellules somatiques, inférieure à 10 cellules par champ au fort grossissement [44].
- une erreur de réalisation ou de lecture du test Uriscreen.

Les résultats de la sensibilité du test en médecine humaine montrent des résultats contradictoires en fonction de la réalisation de l'étude [3, 11, 24, 32, 38, 39, 43, 44]. La présence de faux négatifs serait surprenante face à l'excellente sensibilité du test (100%) selon deux études [24, 44], mais les performances du test restent à être évaluées chez le veau septicémique.

Un examen cytologique de l'urine concomitant à l'examen bactériologique aurait permis de mieux comprendre les faux positifs et faux négatifs; en effet le test Uriscreen permet de détecter au moins 50 000 UFC/mL ou au moins 10 cellules somatiques (leucocytes ou érythrocytes) par champ au fort grossissement [44].

Dans 2 des 3 prélèvements avec un test Uriscreen positif et un dénombrement *E. coli* inférieur à 50000 UFC/mL, *Klebsiella* spp. était présente mais leur dénombrement n'a pas été réalisé. Les *Klebsiella* étant des bactéries catalase positif, comme *Escherichia coli*, ont pu contribuer à rendre ces résultats positifs.

L'interprétation des résultats Uriscreen doit être réalisée avec prudence en raison du faible nombre de prélèvements et du caractère non indépendant des résultats (plusieurs prélèvements par veau).

Conclusions

Les enjeux du diagnostic de septicémie sont à la fois liés au pronostic et à la nature du traitement. La présence d'une septicémie rend indispensable la mise en place d'un traitement antibiotique par voie générale, alors qu'un traitement « local » (voie orale avec un antibiotique à résorption digestive faible) peut être suffisant lors d'affection digestive localisée (diarrhée simple). Face à l'incertitude fréquente sur la présence d'une septicémie, la mise en place systématique d'un traitement antibiotique systémique est souvent observée, en effet environ 30 % des veaux diarrhéiques avec abattement sont bactériémiques [19, 30].

Notre étude a permis pour la première fois de mettre en évidence le lien entre bactériémie et bactériurie chez le veau nouveau-né en septicémie, la bactériurie apparaissant secondairement à la bactériémie. L'essai ne permet pas néanmoins de savoir si la bactériurie est systématique dans les cas de septicémie. La présence d'une bactériurie chez les veaux septicémiques autorise ainsi l'utilisation d'un test basé sur la présence de bactéries dans l'urine comme témoin de la bactériémie. Les résultats de l'essai sont encourageants pour le test Uriscreen® au vu de sa concordance avec les cultures urinaires mais ne suffisent pas pour évaluer les performances du test (sensibilité, spécificité et les valeurs prédictives négative et positive). Celles-ci restent donc à réaliser.

Les contraintes en pratique courante obligent au développement de tests peu coûteux, rapides et réalisables au chevet de l'animal, ce qui est permis par le test Uriscreen®. La ponction par voie transabdominale étant un geste facile à réaliser, le test Uriscreen® pourrait être une aide au diagnostic ainsi que pour le choix des antibiotiques et de la voie d'administration.

De plus dans les conditions expérimentales de l'essai, l'urine était prélevée par ponction transabdominale; il serait intéressant d'évaluer les résultats du test Uriscreen sur de l'urine issue par miction spontanée. Il reste à réaliser une étude évaluant l'efficacité du test Uriscreen en conditions de terrain.

Le lien bactériémie-bactériurie semble extrapolable aux jeunes bovins et bovins adultes mais ceci devra être vérifié. De plus se pose la question de l'obtention de l'urine sur ces animaux-là. En effet seule la collecte d'urine par miction ou par cathétérisme urétral est envisageable sur les bovins de cette classe d'âge, ce qui pose la question de l'interprétation du test Uriscreen dans ces conditions (en fonction des contaminations bactériennes et en cellules somatiques inévitables).

Enfin les mécanismes physiopathogéniques expliquant une bactériurie secondaire à la bactériémie étant toujours inconnus, d'autres études sont nécessaires pour les comprendre.

Références bibliographiques

1. ADAMS R, GARRY FB, ALDRIDGE BM, HOLLAND MD, ODDE KG. Hematologic values in newborn beef calves. *Am. J. Vet. Res.* 1992; 53 (6) : 944-950.
2. ANGELOS SM, SMITH BP, GEORGE LW, HOUSE JK, VAN METRE DC, FECTEAU G, THACKER VC, ANGELOS JA. Treatment of hypernatremia in an acidotic neonatal calf. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1999; 214(9) : 1364-1367.
3. BERGER SA, BOGOKOWSKY B, BLOCK C. Rapid screening of urine for bacteria and cells by using a catalase reagent. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28 : 1066-1067.
4. BESSER T E, GAY C C. Septicemic colibacillosis and failure of passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1985; 1(3) : 445-459.
5. BLOOD and RADOSTITS. *Veterinary Medicine.* 7ème Ed. Baillière Tindall London. 1989. p 1502.
6. BRAUDE A.L, PITTSBURGH H.B. Detection of urinary catalase by disk flotation. *Journal Lab. And Clin. Med.* 1961; 57 : 490-49
7. BRAUNER A, KAIJSER B, WRETLIND B et KÜHN I. Characterization of *Escherichia coli* isolated in blood, urine and faeces from bacteraemic patients and possible spread of infection. *APMIS* 1991; 99 : 381-386.
8. CARROLL K.C., DEVON C.H., VON DOERUM D.H., REICH G.C., HAMILTON L.T.et MASTEN J.M. Laboratory evaluation of urinary tract infections in ambulatory clinic. *Am. J. Clin. Pathol.* 1994; 101 : 100-103.
9. CONGDON D, FEDERKO DF. Evaluation of two rapid urine screening tests. *Lab. Med.* 1992; 23 : 613-615.
10. CONTREPOIS M, DUBOURGUIER HC, PARODI AL, GIRARDEAU JP, OLLIER JL. Septicaemic *Escherichia coli* and experimental infection of calves. *Vet. Microbiol.* 1986; 12:109-118.
11. DALTON MT, COMEAU S, RAINNIE B, LAMBERT K, FORWARD KR. A comparison of the API Uriscreeen with the Vitek Urine identification-3 and the leucocyte esterase or nitrite strip as a screening test for bacteriuria. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1993; 16 : 93-97.
12. DA SILVA O, OHLSSON A et ENYON C. Accuracy of leukocytes indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis : a critical review. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1995; 14 : 362-366.
13. DE LOUVOIS J, HARVEY D Eds; *Infection in the newborn.* Ed Chichester : John Wiley, 1990

14. DE RYCKE J. Rôle des souches d'*Escherichia coli* non entérotoxigènes (K99-, ST-) dans la pathologie néonatale du veau. *Ann. Rech. Vét.* 1984; 15(1) : 75-95.
15. DUNNING M, STONEHEWER J. Urinary tract infections in small animals : pathophysiology and diagnosis. *In Pract.* 2002, vol. 24, n°8, 418-432.
16. FECTEAU G. La septicémie néonatale chez les veaux nouveaux-nés. Qu'avons-nous appris vraiment ? *De la recherche à la clinique. Proc SFB Paris* 2003, 134-141.
17. FECTEAU G, FAIRBROTHER JM, HIGGINS R, VAN METRE DC, PARE J, SMITH BP, HOLMBERG CA, JANG S. Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from the blood of bacteremic neonatal calves. *Vet. Microbiol.* 2001; 78 : 241-249.
18. FECTEAU G, PARE J, VAN METRE D C, SMITH BP, HOMBERG C A, GUTERBOCK W, JANG S. Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *Can. Vet. J.* 1997; 38 : 101-104.
19. FECTEAU G, VAN METRE DC, PARE J, SMITH BP, HIGGINS R, HOLMBERG CA, JANG S, GUTERBOCK W. Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. *Can. Vet. J.* 1997; 38(2) : 95-100.
20. FETTMAN MJ, ROLLIN RE. Antimicrobial alternatives for calf diarrhea : Iron chelators or competitors. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1985; 187 (7) : 746-748.
21. FOWLIE PW, SCHMIDT B. Diagnostic tests for bacterial infection from birth to 90 days : a systematic review. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal* 1998; 78(2) : F 92-98.
22. GAY CC, BESSER TE. *Escherichia coli* septicaemia in calves. *In : GYLES CL. Escherichia coli in domestic animals and humans.* Cab. International, Wallingford, 1994, p. 75-90.
23. GUERIN-FAUBLEE V., CARRET G. L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêts et limites. *Journées Nationales GTV-INRA* 1999, p. 5-12.
24. HAGAY Z., LEVI R., MISKIN A., MILMAN D., SHARABI H. et INSLERV. Uriscreeen, a rapid enzymatic urine screening test : useful predictor of significant bacteriuria in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 1996, 87 (3) : 410-413.
25. HARIHARAN H, BRYENTON J, ONGE J S, HEANEY S. Blood cultures from calves and foals. *Can. Vet. J.* 1992; 33 : 56 -57.
26. HOUFFSCHMITT Ph, Un point sur les septicémies du veau. *Journée Nationale des GTV.* Tours 2004, p 331-333.
27. LEE BK, CROSSLEY K, GERDING DN. The association between *Staphylococcus aureus* bacteremia and bacteriuria. *Am. J. Med.* 1998; 65(2) : 303-306.
28. LEEUWEN P., OOSTING S. J., MOUWEN et VERTEGEN. Effects of a lactoperoxydase system and lactoferrin, added to a milk replacer diet, on severity of

- diarrhoea, intestinal morphology and microbiology of digesta and faeces in young calves. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 2000. 83; 15-23.
29. LE MINOR L. et VERON M. Bactériologie médicale. 2^{ème} Ed. Edition Flammarion Paris (1989). p. 84, 797 et 836.
 30. LOFSTEDT J, DOHOO I R, DUIZER G. Model to predict septicemia in diarrheic calves. *J. Vet. Intern. Med.* 1999; 13 : 81-88.
 31. MALIK A, HUI CP, PENNIE RA, KIRPALANI H. Beyond the complete blood cell count and C-reactive protein : a systematic review of modern diagnostic tests for neonatal sepsis. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2003; 157 : 11-516.
 32. MILLAR L, DE BUQUE L, LEIALOHA C, GRANDINETTI A, KILLEEN J. Rapid enzymatic urine screening test to detect bacteriuria in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 2000; 95(4):601-604.
 33. NAVETAT H, RIZET C. Diarrhées néonatales : quand faut-il recourir à l'antibiothérapie ? *Journées Nationales GTV-INRA* 1999, p.107-111.
 34. NAVETAT H, SCHMITT E, RIZET CI, MIRO A, SCHELCHER F. Septicémie colibacillaire du veau nouveau-né : approche du praticien. *De la recherche à la clinique. Proc. SFB Paris* 2003b : 118-220.
 35. NESBIT RN, DICK VS. Acute Staphylococcal infections of the kidney. *J. Urol.* 1940; 43 : 623.
 36. OSBORNE, STEVENS. Analyse biochimique de l'urine : indications, méthodes, interprétation. *Analyses urinaires : guide clinique.* Version française Bayer, Leverkusen. 86-125.
 37. OSWALD E. Les facteurs de virulence des *Escherichia coli* septicémiques du veau. *De la recherche à la clinique. Ed. Maillard. SFB* 2003, 118-120.
 38. PALMER LS, RICHARDS I, KAPLAN W. Clinical evaluation of a rapid diagnostic screen (Uriscreen) for bacteriuria in children. *J. Urol.* 1997; 157 : 654-657.
 39. PEZZLO M., AMSTERDAM D., ANHALT J.P., LAWRENCE T., STRATTON N. J., VETTER E.A., PETERSON E.M., DE LA MAZA L.M. Detection of bacteriuria and pyuria by Uriscreen, a rapid enzymatic screening test. *J. Clin. Microb.* 1992; 30 : 680-684.
 40. POHL P. Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. *Ann. Méd. Vét.* 1993; 137 : 325-333.
 41. POHL P. Facteurs de virulence chez les *Escherichia coli* septicémiques et saprophytes du veau. *Ann. Méd. Vet.* 1986; 130 : 515-520.
 42. PRIEELS J.P, MONNOM D., DELAHAUT Ph, JACQUEMIN E, VAECKENBEECK A. Essai d'application du système lactoperoxydase au traitement de la diarrhée colibacillaire du veau. *Ann. Méd. Vét.* 1989; 133 : 143-155.

43. TEPPA R., ROBERTS MD. The uriscreen test to detect significant asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2005; 12(1) : 50-3.
44. WAISMAN Y, ZEREM E, AMIR L, MIMOUNI M. The validity of the Uriscreen test for early detection of urinary tract infection in children. *Pediatrics.* 1999; 104(4) : e41.
45. WASHINGTON JA. Collection, transport and processing of blood cultures. *Clin. Lab. Med.* 1994; 14(1) : 59-68.
46. WILSON JR, SCHLOSS OM. Pathology of so-called “acute pyelitis” in infants. *Am. J. Dis. Child.* 1929; 38 : 227.
47. ZAMBARDI G, FRENEY J. Prélèvements en bactériologie clinique. *Manuel de bactériologie clinique.* 1993; vol 1 : 149-155.

Annexe 1 : éléments prédictifs de la septicémie à partir d'un score

	Fecteau et coll (1997)	Lofstedt et coll (1999)	Navetat et coll (2003)
Variables cliniques	+	+	+
Age	+	+	+
Foyer infectieux (ombilic, plaie)	+	+	
Aspect de l'ombilic	+		
Température			+
Attitude générale			+
Aptitude au relever	+	+	+
Réflexe de succion			+
Appétit			+
Evaluation de l'hydratation	+		
Aspect de la sclère oculaire	+		
Aspect des fécès	+		
Variables de laboratoire		+	+

Annexe 2 : grille du score clinique employé pour effectuer le suivi des animaux

Jour	
Heure réelleh
Opérateur	
Température	3 : $\geq 38^{\circ}\text{C}$ et $\leq 39^{\circ}\text{C}$ 2 : ≥ 37.5 et < 38 ou > 39 et < 39.5 1 : < 37.5 et > 39.5
Comportement (attitude générale)	3 : normal 2 : altéré 1 : comateux
Aptitude au relever	3 : normal 2 : diminué 1 : absent
Réflexe de succion	3 : normal 2 : diminué 1 : absent
Appétit	3 : normal 2 : diminué 1 : absent
Total = score clinique	
Aspect du nombril	4 : taille normale, sec, non douloureux 3 : plus gros que normal, sec, non douloureux 2 : plus gros que normal, humide ou douloureux 1 : plus gros que normal, purulent, douloureux
Aspect des fèces	4 : normal 3 : un peu mou, sans souillure de la queue 2 : diarrhée, non profuse, queue mouillée 1 : diarrhée aqueuse, profuse, enclos souillé (sang éventuel)
Articulation <i>Carpe C/ Coude CO/ Grasset G/ Jarret J (gauche g / droite d)</i>	4 : normal 3 : taille > normal, sec, non douloureux 2 : taille > normal, sec, douloureux 1 : taille > normal, purulent, douloureux
Etat d'hydratation	4 : hydratation normale, pli de peau < 2s 3 : légère déshydratation, œil légèrement enfoncé, pli peau > 2s mais < 4s 2 : déshydratation nette, yeux enfoncés, mufle sec, pli peau > 4s 1 : déshydratation sévère, enophtalmie marquée, pli de peau persistant
Conjonctive	4 : normal / 3 : oedémateux / 2 : anémique / 1 : congestif
Sclère	4 : normal, vaisseaux < 2, n'atteignant pas le limbe / 3 : vaisseaux plus nombreux (< 4), un vaisseau atteint le limbe, couleur toujours rosée, taille normale 2 : plus de 4, au moins 2 atteignent le limbe, couleur rouge, taille légèrement ↑ 1 : > 6, au moins 3 atteignent le limbe, violacée, taille fortement ↑
Total score secondaire	

	Cu (µmol/l)	Zn (µmol/l)	GSH-Pxe (U/gHb)	IIP(iode) – (µg/l)	T4 (nmol/l)
Valeurs usuelles	11,80-18	1,60-21	155-600	> 105	60-85
inoculé 1	4,64	15,04	51	> 600	198
témoin 1	9,97	13,61	17	184	192
inoculé 2	6,36	23,55	414	> 600	157
témoin 2	5,06	11,24	342	297	200
inoculé 3	2,99	8,78	50	245	251
témoin 3	4,53	10,27	228	457	196
inoculé 4	6,25	16,96	176	> 600	230
inoculé 5	2,80	22,24	38	363	215

Annexe 3 : statut en oligoéléments et hormone thyroïdienne des veaux à leur arrivée

	<i>entrée</i>	<i>entrée</i>	<i>entrée après colostrum</i>	<i>entrée après colostrum</i>	<i>H0</i>	<i>H0</i>
	PT (g/l) (Hemavet 950)	PT (g/l) réfractomètre	GGT (U/l)	PT (g/l)	GGT (U/l)	GGT (U/l)
inoculé 1	38,8		23			
témoin 1	44,80	40,00	16,00	50,80	2564,00	369,00
inoculé 2	34,3	35	16			
témoin 2	41,60	39,00	16,00	42,50	1096,00	356,00
inoculé 3	40,8	42	8			
témoin 3		46,00		47,30	1673,00	671,00
inoculé 4	28,6	50	28			
inoculé 5	36,5		7			

Annexe 3bis : statut en protéines totales et GGT des veaux à leur arrivée

	T0	T2	T6	T12	T14	T18	T20	T26	T28	T30	T40	T44	H0	H2	H4	H6	H10	H12	H14	H16	H18	H20
Température																						
	38,7	39	39	38	39	39	39	39	39	39	39	39,3	40	39,8	39,8	39,8	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3
	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Comportement (attitude générale)																						
	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Appétit																						
	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Total = score clinique	15	15	15	12	14	14	14	13	13	12	12	12	9	9	9	9	12	12	12	12	11	11
Aspect du nombril																						
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Aspect des fécès																						
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Articulation																						
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Etat d'hydratation																						
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Conjonctive																						
	4	4	4	3	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	4	4	4	3	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sclère																						
	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Total = score secondaire	24	24	24	22	22	22	22	20	20	19	19	16	18	17	17	17	16	16	16	16	16	16

Annexe 4 : grille clinique de l'inoculé 1

	T0	T2	T4	T6	T8	T12	T14	T16	T18	T20	T22	H0	H2	H4	H6	H10	H12	H14	H16	H18	H20	
Température																						
	38,7		39		39,6			39,6	39,7		40	40	40	40	39,6	38,8	39	39				39
	3	3	3	3	1			1	1		1	1	1	1	2	3	3	2	2			3
Comportement (attitude générale)																						
	3	3	3	3	3			3	3		2	2	2	2	1	1	1	1	1			1
Aptitude au relever																						
	3	3	3	3	3			3	2		2	2	2	2	1	1	1	1	1			1
Réflexe de succion																						
	3	3	3	3	3			3	3		3	3	3	2	2	1	1	1	1			1
Appétit																						
	3	3	3	3	3			3	3		3	3	3	2	1	1	1	1	1			1
Total = score clinique	15		15		13			13	12		11	11	9	7	7	7	7	6	6			7
Aspect du nombril																						
	3	3	3	3	3			3	3		3	3	3	3	3	3	3	3	3			3
Aspect des fèces																						
	4	4	4	4	3			3	3		3	3	2	2	2	2	2	2	2			2
Articulation																						
	4	4	4	4	4			2	2		2	2	2	2	2	2	2	2	2			2
Etat d'hydratation																						
	4	4	4	4	4			4	4		4	4	4	3	3	3	3	3	3			3
Conjonctive																						
	4	4	4	4	4			4	4		4	4	4	3	3	3	3	3	3			1
Sclère																						
	4	4	4	4	4			4	4		4	3	3	3	2	2	2	2	2			2
Total = score secondaire	23		23		22			20	20		20	19	16	15	15	15	15	15	15			13

Annexe 5 : grille clinique de l'inoculé 2

	T0	T2	T4	T8	T10	T12	T14	T18	T20	T22	H0	H2	H4	H6	H10	H12	H14	H18	H23
Température			38	38,1	38		38	38	38		39,6			39,2		41,1		39,7	
	3	3	3	3	3		3	3	3		1			2		1		1	
	3 : ≥38°C et ≤39°C 2 : ≥37,5 et < 38 ou >39 et <39,5 1 : <37,5 et >39,5																		
Comportement (attitude générale)	3	3	3	2	2		2	2	2		2			2		2		1	
	3 : normal 2 : altéré 1 : comateux																		
Aptitude au relever	3		2	2	2		2	2	2		2			1		1		1	
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																		
Réflexe de succion	3		3	3	3		3	3	3		2			1		1		1	
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																		
Appétit	3		2	2	2		2	2	2		2			1		1		1	
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																		
Total = score clinique	15		12	12	12		12	12	12		9			7		6		5	
Aspect du nombril	4	4	4	4	4		4	4	4		4			4		4		4	
	4 : taille normale, sec, non douloureux 3 : plus gros que normal, sec, non douloureux 2 : plus gros que normal, humide ou douloureux 1 : plus gros que normal, purulent, douloureux																		
Aspect des fécès	4		4	4	4		4	4	4		4			4		1		1	
	4 : normal 3 : un peu mou, sans souillure de la queue 2 : diarrhée, non profuse, queue mouillée 1 : diarrhée aqueuse, profuse, enclos souillé (sang éventuel)																		
Articulation	4	4	4	4	4		4	4	4		4			4		4		4	
	4 : normal / 3 : taille > normal, sec, non douloureux 2 : taille > normal, sec, douloureux / 1 : taille > normal, purulent, douloureux <i>CarpeC/ Coude CO/ Grasset G/ Jarret J (gauche g / droite d)</i>																		
Etat d'hydratation	4	4	4	4	4		4	4	4		4			4		4		2	
	3 : Légère déshydratation, œil légèrement enfoncé, pli peau > 2s mais < 4s 2 : Déshydratation nette, yeux enfoncés, muque sec, pli peau > 4s 1 : Déshydratation sévère, enophtalmie marquée, pli de peau persistant																		
Conjonctive	4		4	4	4		4	4	4		4			1		1		1	
	4 : normal / 3 : oedémateux / 2 : anémique / 1 : congestif																		
Sclère	4		4	4	4		4	4	4		2			2		2		1	
	4 : normal, vaisseaux <2, n'atteignant pas le limbe / 3 : vaisseaux plus nombreux (<4) un vaisseau atteint le limbe, couleur fîs rosée, taille normale 2 : plus de 4, au moins 2 atteignent le limbe, couleur rouge, taille légèrement ↑ 1 : >6, au moins 3 atteignent le limbe, violacée, taille fortement ↑																		
Total = score secondaire	24		24	24	24		24	24	24		22			19		16		13	

Annexe 6 : grille clinique de l'inoculé 3

	T0	T4	T6	T10	T12	T18	T20	T24	T26	T30	T36	H0	H2	H4	H7	H10	H10
Température	38	38	38		38		39		38,4		39,6	39,6		40	39,6		39,6
	3	3	3		3		3		3		1	1		1	1		1
	3 : ≥38°C et ≤39°C 2 : ≥37,5 et < 38 ou >39 et <39,5 1 : <37,5 et >39,5																
Comportement	3	3	3		3		3		2		3	3		2	2		2
	3 : normal 2 : altéré 1 : comateux																
Aptitude au relever	3	3	3		3		3		3		2	2		2	2		2
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																
Reflexe de succion	3	3	3		3		3		3		3	3		2	2		2
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																
Appétit	3	3	3		3		3		2		3	2		2	2		2
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent																
Total = score clinique	15	15	15		15		15		13		12	11		9	9		9
Aspect du nombril	4	4	4		4		4		4		4	4		4	4		4
	4 : taille normale, sec, non douloureux 3 : plus gros que normal, sec, non douloureux 2 : plus gros que normal, humide ou douloureux 1 : plus gros que normal, purulent, douloureux																
Aspect des fécès	4	4	4		4		4		3		3	2		1	1		1
	4 : normal 3 : un peu mou, sans souillure de la queue 2 : diarrhée, non profuse, queue mouillée 1 : diarrhée aqueuse, profuse, enclos souillé (sang éventuel)																
Articulation	4	4	4		4		4		4		4	4		4	4		4
	4 : normal / 3 : taille > normal, sec, non douloureux 2 : taille > normal, sec, douloureux / 1 : taille > normal, purulent, douloureux																
	<i>CarpeC/ Coude CO/ Grasset G/ Jarret J (gauche g / droite d)</i>																
Etat d'hydratation	4	4	4		4		4		4		4	3		3	3		3
	4 : hydratation normale, pli de peau < 2s 3 : légère déshydratation, œil légèrement enfoncé, pli de peau > 2s mais < 4s 2 : Déshydratation nette, yeux enfoncés, muque sec, pli de peau > 4s 1 : Déshydratation sévère, enophtalmie marquée, pli de peau persistant																
Conjonctive	4	4	4		4		4		4		4	4		4	4		4
	4 : normal / 3 : œdémateux / 2 : anémique / 1 : congestif																
Sclère	4	4	4		4		4		3		3	2		2	2		2
	4 : normal, vaisseaux < 2, n'atteignant pas le limbe / 3 : vaisseaux plus nombreux (< 4), un vaisseau atteint le limbe, couleur iris rosée, taille normale 2 : plus de 4, au moins 2 atteignent le limbe, couleur rouge, taille légèrement ↑ 1 : > 6, au moins 3 atteignent le limbe, violacée, taille fortement ↑																
Total = score secondaire	24	24	24		24		24		22		22	19		18	18		18

Annexe 7 : grille clinique de l'inoculé 4

	T0	T6	T8	T14	T16	T18	T20	T26	T30	T34	H0	H6	H9
Température	38,5	39,1	39	39,2	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,3	39,5	37,4
	3 : $\geq 38^{\circ}\text{C}$ et $\leq 39^{\circ}\text{C}$ 2 : $\geq 37,5$ et < 38 ou > 39 et $< 39,5$ 1 : $< 37,5$ et $> 39,5$	3	2	3	3	3	3	3	3	2	2	1	1
Comportement	3 : normal 2 : altéré 1 : comateux	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1
Aptitude au relever	3 : normal 2 : diminué 1 : absent	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	1
Reflexe de succion	3 : normal 2 : diminué 1 : absent	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	1
Appétit	3 : normal 2 : diminué 1 : absent	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	1	1
Total = score clinique	15	14	15	14	15	15	15	15	15	14	10	7	5
Aspect du nombril 4 : taille normale, sec, non douloureux 3 : plus gros que normal, sec, non douloureux 2 : plus gros que normal, humide ou douloureux 1 : plus gros que normal, purulent, douloureux	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Aspect des fécès 4 : normal 3 : un peu mou, sans souillure de la queue 2 : diarrhée, non profuse, queue mouillée 1 : diarrhée aqueuse, profuse, enclos souillé (sang éventuel)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Articulation 4 : normal / 3 : taille > normal, sec, non douloureux 2 : taille > normal, sec, douloureux / 1 : taille > normal, purulent, douloureux <i>CarpeC/ Coude CO/ Grasset G/ Jarret J (gauche g / droite d)</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Etat d'hydratation 4 : hydratation normale, pli de peau < 2s 3 : Légère déshydratation, œil légèrement enfoncé, pli de peau > 2s mais < 4s 2 : Déshydratation nette, yeux enfoncés, muque sec, pli de peau > 4s 1 : Déshydratation sévère, enophtalmie marquée, pli de peau persistant	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2
Conjonctive 4 : normal / 3 : œdémateux 2 : anémique / 1 : congestif	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Sclère 4 : normal, vaisseaux < 2, n'atteignant pas le limbe / 3 : vaisseaux plus nombreux (< 4), un vaisseau atteint le limbe, couleur fîs rosée, taille normale 2 : plus de 4, au moins 2 atteignent le limbe, couleur rouge, taille légèrement ↑ 1 : > 6, au moins 3 atteignent le limbe, violacée, taille fortement ↑	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	1	1
Total = score secondaire	24	24	24	24	24	24	24	24	24	21	20	17	16

Annexe 8 : grille clinique de l'inoculé 5

	T0	T4	T6	T12	T14	T18	T20	T26	T28	T30	T40	T44	H0	H2	H4	H6	H12	H14	H16	H18
Température	38,6		38,5	39			39	38,6	38,7		38,5		38,5		38,6		38,5			39
	3		3	3			3	3	3		3		3		3		3			3
Comportement																				
	3		3	3			3	3	3		3		3		3		3			3
Aptitude au relever																				
	3		3	3			3	3	3		3		3		3		3			3
Reflexe de succion																				
	3		3	3			3	3	3		3		3		3		3			3
Appétit																				
	3		3	3			2	3	3		3		3		3		3			3
Total = score clinique	15		15	15			14	15	15		15		15		15		15			15
Aspect du nombril	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Aspect des fécès	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Articulation	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Etat d'hydratation	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Conjonctive	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Sclère	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
	4		4	4			4	4	4		4		4		4		4			4
Total = score secondaire	24		24	24			24	24	24		24		24		24		24			24

Annexe 9 : grille clinique du témoin 1

	T0	T2	T4	T12	T14	T16	T18	T22	H0	H2	H4	H6	H12	H16	H18
Température			39			39	38,7	39	38,5		38,6		38,5		39
	38,6		3	3		3	3	3	3		3		3		3
	3 : ≥38°C et ≤39°C 2 : ≥37,5 et < 38 ou >39 et <39,5 1 : <37,5 et >39,5														
Comportement			3			3									
	3 : normal 2 : altéré 1 : comateux														
Apptitude au relever			3			3									
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent														
Reflexe de succion			3			3									
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent														
Appétit			2			3									
	3 : normal 2 : diminué 1 : absent														
Total = score clinique	15		14			15		14	15		15		15		15
Aspect du nombril	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : taille normale, sec, non douloureux 3 : plus gros que normal, sec, non douloureux 2 : plus gros que normal, humide ou douloureux 1 : plus gros que normal, purulent, douloureux														
Aspect des fécès	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : normal 3 : un peu mou, sans souillure de la queue 2 : diarrhée, non profuse, queue mouillée 1 : diarrhée aqueuse, profuse, enclos souillé (sang éventuel)														
Articulation	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : normal / 3 : taille > normal, sec, non douloureux 2 : taille > normal, sec, douloureux / 1 : taille > normal, purulent, douloureux														
<i>CarpeC/ Coude CO/ Grasset G/ Jarret J (gauche g / droite d)</i>															
Etat d'hydratation	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : hydratation normale, pli de peau < 2s 3 : légère déshydratation, œil légèrement enfoncé, pli de peau > 2s mais < 4s 2 : Déshydratation nette, yeux enfoncés, muque sec, pli de peau > 4s 1 : Déshydratation sévère, énophtalmie marquée, pli de peau persistant														
Conjonctive	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : normal / 3 : œdémateux / 2 : anémique / 1 : congestif														
Sclère	4		4			4		4	4		4		4		4
	4 : normal, vaisseaux < 2, n'atteignant pas le limbe / 3 : vaisseaux plus nombreux (< 4), un vaisseau atteint le limbe, couleur iris rosée, taille normale 2 : plus de 4, au moins 2 atteignent le limbe, couleur rouge, taille légèrement ↑ 1 : > 6, au moins 3 atteignent le limbe, violacée, taille fortement ↑														
Total = score secondaire	24		24			24		24	24		24		24		24

Annexe 10 : grille clinique du témoin 2

	T0	T2	T4	T8	T10	T18	T20	T22	H0	H2	H4	H6	H10	H12	H14	H18	H23
Température																	
	38,9	38	38	38,5	38,5	38	38	38	38			38,5		38,9		38,1	
	3	3	3	3	3	3	3	3	3			3		3		3	
Comportement																	
	3	3	3	3	3	3	3	3	3			3		3		3	
Aptitude au relever																	
	3	2	2	3	3	3	3	3	3			3		3		3	
Reflexe de succion																	
	3	3	3	3	3	3	3	3	3			3		3		3	
Appétit																	
	3	2	2	3	3	3	3	3	3			3		3		3	
Total = score clinique	15		14	15	15	15	15	15	15			15		15		15	
Aspect du nombril																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Aspect des fécès																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Articulation																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Etat d'hydratation																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Conjonctive																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Sclère																	
	4	4	4	4	4	4	4	4	4			4		4		4	
Total = score secondaire	24		24	24	24	24	24	24	24			24		24		24	

Annexe 11 : grille clinique du témoin 3

	Inoculé 1			Inoculé 2			Inoculé 3			Inoculé 4			Inoculé 5		
	T0	H0	H final	T0	H0	H final	T0	H0	H final	T0	H0	H final	T0	H0	H final
micro Ht %	32	33	34	32	34	27	35	34		41		53	31	28	27
leucocytes (10 ⁹ /L)	3,12	4,5	4,02	4,7	6,6	1,84	8,62	3,54		7,66		3,76	5,68	3,1	2,04
neutrophiles (10 ⁹ /L)	1,57	3,79	2,84	1	5,2	0,43	0,97	0,54		3,4		1,54	1,76	2,2	1,2
lymphocytes (10 ⁹ /L)	1,13	0,46	0,87	2,9	1,1	1,05	5,97	2,73		3,62		1,65	2,66	0,7	0,49
monocytes (10 ⁹ /L)	0,4	0,07	0,29	0,8	0,2	0,24	1,67	0,21		0,62		0,19	1,25	0,2	0,33
éosinophiles (10 ⁹ /L)	0,02	0,13	0,02	0	0,1	0,08	0,01	0,05		0,02		0,24	0,01	0	0,02
basophiles (10 ⁹ /L)	0	0,05	0	0	0	0,04	0	0,01		0		0,14	0	0	0
Plaquettes (10 ⁹ /L)	418	240	184	262	220	34	230	112		405		85	297	194	171

	Témoins 1			Témoins 2			Témoins 3		
	T0	H0	H final	T0	H0	H final	T0	H0	H final
micro Ht %	32	36	30	30	28				32
leucocytes (10 ⁹ /L)	19,7	16,2	16,3	8,8	5,3				5,44
neutrophiles (10 ⁹ /L)	5,18	11,4	barré	5,3	2,7				2,65
Lymphocytes (10 ⁹ /L)	9,75	4,16	barré	3	2,2				2,32
monocytes (10 ⁹ /L)	4,56	0,32	barré	0,5	0,3				0,45
éosinophiles (10 ⁹ /L)	0,22	0,23	barré	0,1	0				0,02
basophiles (10 ⁹ /L)	0,01	0,03	barré	0	0				0
Plaquettes (10 ⁹ /L)	533	515	489	236	305				254

Annexe 12 : résultats hématologiques des veaux inoculés et témoins

	Inoculé 1				Inoculé 2				Inoculé 3				Inoculé 4				Inoculé 5								
	T0	H0	H4	H12	H18	T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12	H18	H23	T0	H0	H4	H7	H10	T0	H0	H6
pH	7,43	7,44	7,44	7,5	7,43	7,42	7,57	7,41	7,43	7,42	7,34	7,21	7,3	7,28	7,26	7,04		7,41	7,28	7,22		6,83	7,34	7,36	7,37
pCO2	52	62	61	50	71	55	39	56	49	47	46	65	71	75	73	94		59	62	74		151	72	72	72
HCO3	31,5	38	37,1	36	42,6	32,6	31,9	32	29,3	28,3	22,5	24,1	31,2	31,8	29,1	22,5		33,7	26,1	27,4		22,4	35,1	36,9	37,9
AnGap	23,3	19,6	19	48,8	18,2	21,5	18,4	19,1	22	24,5	30,7	20,8	18,1	16,5	27,5	26,5		20	22,1	21,2		25,7	17,9	14,8	15,4
tCO2	33	39,7	38,7	37,4	44,5	34,2	32,9	33,5	30,7	29,6	23,8	26	33,1	33,9	31	25,1		35,4	27,8	29,4		26,7	37,1	38,9	39,9
Na+	151	153	151	180	157	155	154	156	156	157	157	148	149	149	154	147		148	153	155		153	157	163	164
K+	3,8	3,8	3,7	4,7	3,8	4	3,9	3,7	4,4	5	5,2	4,6	3,7	3,8	3,7	4		5,2	4,7	4,5		6,8	4,2	3,6	3,5
Cl-	100	99	98	100	100	105	108	109	109	109	109	108	104	105	101	102		100	110	111		112	108	114	114

	Témoins 1				Témoins 2				Témoins 3							
	T0	H0	H4	H12	H18	T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12	H18
pH	7,49	7,56	7,43	7,41	7,41	7,4	7,39	7,43	7,4	7,39	7,41	7,4	7,39			7,39
pCO2	50	44	60	63	62	61	66	61	65	70	62	47	58			62
HCO3	34,1	36,2	36,1	36,2	35,7	34,1	35,9	63,9	36,5	37,7	35,9	26,6	31,9			34,5
AnGap	14,3	12,8	15,6	13	15,9	16	14,4	14,5	19,6	12,6	15,9	22,7	19,2			15,5
tCO2	35,5	37,5	37,8	37,9	37,4	35,9	37,8	38,6	38,4	39,6	37,6	27,9	33,6			36,2
Na+	147	146	148	146	147	146	152	152	156	150	149	151	151			149
K+	4,6	5,6	3,8	3,8	3,7	4	3,9	3,6	3,3	3,8	3,5	3,8	4,5			4,6
Cl-	103	102	100	101	99	99	106	104	103	103	101	106	105			104

Annexe 13 : résultats des gaz sanguins des veaux inoculés et témoins

	Inoculé 1					Inoculé 2					Inoculé 3					Inoculé 4					Inoculé 5	
	T0	H0	H4	H12	H18	T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12	H18	H23	T0	H7	H10	T0	H9
pH	7,49	7,58	7,90			8,18	7,93	7,29	6,9	6,55							7,53	6,09	6,18	6,74	6,88	
densité	1,02	1,01	1	1,02	1,02	1	d=1,005	1,01	1,015	1,02	1,015	1,015	1,015	1,03	1,025	1,005	1,005	1,025	1,005	1,01		
bandelette	prot +	pH 8	pH 8,5	pH 8	pH 8	pH 8,5	pH 8,5	pH 7	pH 7,5	pH 7	pH 8	pH 8	pH 8	pH 5	pH 5	pH 8	pH 5	pH 5	pH 7	pH 7		
	glc 3+	nit+ +	prot +	prot +	prot +	prot +	prot +	prot +	prot +	prot +	leuc +	leuc +	leuc +	leuc +	glc 2+	glc 4+	prot +	prot +	prot +	prot +		
Uriscreeen Heller	Hb +	prot +	glc +	Hb +	Hb +	Hb +	Hb +	urobil +	urobil +	Hb 4+	prot +	glc +	glc +	glc 2+	Hb 4+	glc 2+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 3+	glc 2+		
	glc 2+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	glc 2+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 3+	Hb 3+	Hb 3+	Hb 3+	Hb 3+						
commentaires cystocentèse	0	0	++	++	+	0	0	+	+	+	++	++	++	++	+	+	+	+	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile		
					propre																	

	Témoin 1					Témoin 2					Témoin 3				
	T0	H0	H4	H12	H18	T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12
pH	7,05	7,85		8,1	8,07	7,33	8,14	8,01	7,84	8,02	8	7,45	7,48	7,49	8,16
densité	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,005	1,005	1,005	1,005	1,005	1,01	1,005	1,005
Bandelette	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8	pH 8
	prot +	prot +	prot +	prot +	prot +	glc 2+	glc 2+	prot +	prot +	prot +	prot +				
Uriscreeen Heller	glc 2+	glc +	glc +	glc +	glc +	glc 2+	glc 2+	glc 4+	glc 2+	glc 2+	glc 2+				
					Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+	Hb 4+				
commentaires cystocentèse	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	facile	facile	Difficile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile	facile
		bcp bougé	Beaucoup bougé		clair										

Annexe 14 : résultats des analyses urinaires et des tests Uriscreeen des veaux inoculés et témoins

	Inoculé 1										Inoculé 2										Inoculé 3				
	T0	H0	H4	H12	H18	T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12	H18	H23	T0	H0	H6	H12	H18	H23		
Sang	E. coli typage O 78	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés		
	Autres	Abs	+	+	+	NE <i>Citro,</i> <i>Aero</i>	Abs	Abs	Abs	+	+	NE	Abs	+	+	+	+	NE	Prés	+	+	+	+		
Urine	E. coli Typage O 78	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Abs	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés		
	Dénombr. E Coli Autres	NE	+	+	+	+	NE	200 000/g	>15.10 ⁶ /g	9000 / g	>15.10 ⁶ /g	<100/g	200 000/g	200000/g	>15.10 ⁶ /g	>15.10 ⁶ /g	>15.10 ⁶ /ml	<100/g	20000/ml	20000/ml	>10 ⁷ /ml	>10 ⁷ /ml	>10 ⁵ /ml		
Fécès	E. coli typage O 78	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés		
	Dénombr. E Coli Autres	+	4,5 10 ⁶ /g	7,3.10 ⁹ /g	8,7 10 ⁶ /g	1,39 10 ⁹ /g	700000/g	3.10 ⁹ / g	700000/g	1,39 10 ⁹ /g	1,39 10 ⁹ /g	700000/g	700000/g	3.10 ⁹ / g	1,39 10 ⁹ /g	1,39 10 ⁹ /g	1,39 10 ⁹ /g	<100 000/g	9.10 ⁹ /g	9.10 ⁹ /g	9.10 ⁹ /g	9.10 ⁹ /g	9.10 ⁸ /g		
Foie	E. coli Typage O 78	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés		
	Autres	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Rein	E. coli typage O 78	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés	Prés		
	Autres	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Annexe 15 : résultats bactériologiques des inoculés 1, 2 et 3

	Inoculé 4							Inoculé 5				
	T0	H0	H4	H7	H10	T0	H0	H6	H9	H9bis		
Sang	E. coli typage O 78 Autres	Abs Prés	Prés Kleb.	Prés Kleb.	Prés Kleb.	Prés Kleb.	Abs NE Abs	Prés +	Prés +	Prés +	H9bis	
Urine	E. coli typage O 78 Dén. E Coli Autres	Abs NE < 100/ml Abs	Kleb.	Prés 77000/ml Kleb.	Prés >150000/ml Kleb.	Abs NE < 100/ml Abs	Abs +	Prés +	Abs NE < 100/ml Abs	Prés NE 100/ml Abs		
Fécès	E. coli typage O 78 Dén. E Coli Autres	Prés <100 000/g Kleb., Morganella	Prés	Prés	Prés	Prés <100000/g Abs	Prés +	Prés +	Prés +	Prés +		
Foie	E. coli typage O 78 Autres				7,5.10 ⁸ /g Kleb, K99+ Rota+ reste -				reste -	Prés +		
Rein	E. coli typage O 78 Autres				Prés Kleb.				Prés +	Prés +		

Annexe 15 bis : résultats bactériologiques des inoculés 4 et 5

	Témoins 1						Témoins 2						Témoins 3				
	T0	H0	H4	H12	H18		T0	H0	H6	H10	H16	H20	T0	H0	H6	H12	H18
Sang	E. coli typage O 78 Autres	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs		Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs	Abs NE Abs
Urine	E. coli typage O 78 Dénombrement E. coli Autres	Abs NE <100/g	Abs NE <100/g	Présence 100 000/g	Présence $1,5 \cdot 10^6$ /g		Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Kleb.	Abs NE <100/g Kleb.	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs	Abs NE <100/g Abs
Fécès	E. coli typage O 78 Dénombrement E. coli Autres	Présence 10 ⁷ /g Abs	Présence 3.10 ⁹ /g Abs		Présence 8,9.10 ⁸ /g Kleb. reste -		Présence 1,1.10 ⁸ /g Kleb.	Présence 6.10 ⁷ /g Kleb.				Présence 4.10 ⁹ /g Kleb. Pseudom. reste -	Présence 6.10 ⁷ /g Kleb.	Présence 7.10 ⁹ /g Kleb.			Présence 3.10 ⁹ /g Kleb. K99 : + reste -
Foie	E. coli typage O 78 Autres				Abs NE Abs							Abs NE Abs					Abs NE Abs
Rein	E. coli typage O 78 Autres				Abs NE Abs							Abs NE Abs					Abs NE Abs

Annexe 16 : résultats bactériologiques des témoins

Annexe 17 : composition de l'Energaid® (DMV 2005)

ENERGAID® - Réhydratant pour veaux (DMV édition 2005)

Composition :

- **Poudre orale :**

CITRATE de sodium déshydraté	9,73 g
Acétate de SODIUM.....	5,41 g
Propionate de SODIUM.....	1,91 g
Chlorure de SODIUM.....	4,65 g
Chlorure de POTASSIUM.....	2,96 g
GLUCOSE anhydre	135,30 g
Colorant jaune (E110)	0,10 g
Excipient q.s.p	1 sachet de 165 g

- **Après reconstitution, 2 litres de solution présentent les concentrations suivantes :**

Sodium.....	133 mmol/L
Potassium.....	20 mmol/L
Chlorure.....	60 mmol/L
Propionate.....	10 mmol/L
Acétate.....	33 mmol/L
Citrate.....	16,54 mmol/L
Glucose.....	375 mmol/L

Les ions propionate, acétate et citrate correspondent à un total de 93 mmol/L.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Mr QUENEY Nicolas

a été admis(e) sur concours en : 2001

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 juillet 2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, François SCHELCHER, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :

Mr QUENEY Nicolas

intitulée :

« Lien bactériémie-bactériurie chez le veau nouveau-né : évaluation du test urinaire URISCREEN »



Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur François SCHELCHER



Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Henri DABERNAT

Vu le : 02-03-2009
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER



