

## Cryptosporidiose chez les jeunes veaux en France : aspects scientifiques et pratiques du risque sanitaire

COSTA D. (1), RAZAKANDRAINIBE R. (1), PEZIER T. (2), VILLIER V. (1), LACROIX-LAMANDE S. (2), BARBEY S. (3), DENIZOT V. (4), DOZIAS D. (3), LAURENT F. (2), FAVENNEC L. (1)

(1) EA7510 ESCAPE, université de rouen normandie, 76183 rouen, france

(2) INRAE, UMR1282 infectiologie et santé publique, 37380 nouzilly, france;

(3) INRAE, UE326 domaine expérimental du pin, 61310 gouffern en auge, france;

(4) Innoval, GDS Bretagne, 35538 noyal-sur-Vilaine, france;

### RESUME

Pour optimiser le rendement de production, la bonne gestion sanitaire des animaux d'élevage est essentielle. En France, suivant la race, 10 à 20% des veaux n'atteignent pas l'âge de 6 mois. Les maladies diarrhéiques infectieuses représentent les causes principales de mortalité des jeunes animaux. Parmi celles-ci, l'origine parasitaire et notamment la cryptosporidiose est bien documentée. Cependant, de nombreuses interrogations restent en suspens en France concernant la prévalence des souches parasitaires liées à la symptomatologie ou encore le mode de contamination des jeunes animaux. C'est dans ce contexte qu'a été construite une partie du projet HealthyCalf financé par APIS-GENE. Au total, des données ont été recueillies sur 836 veaux (Holstein + Charolais) sur une période de 4 ans. De nombreuses données sanitaires et épidémiologiques ont été recueillies telles que l'âge des animaux au moment des analyses microbiologiques, leur sexe, le statut infectieux de leurs mères, leur symptomatologie, la réalisation de traitements curatifs ou préventifs. Les performances de deux tests diagnostiques ont été évalués pour la détection de *Cryptosporidium*. La prévalence de *Cryptosporidium* a atteint 77% chez les veaux symptomatiques en faisant de loin l'agent infectieux le plus représenté parmi ceux étudiés (*Rotavirus*, *E. coli*, *Coronavirus*). Pourtant, seulement 43% des veaux porteurs de *Cryptosporidium* sp. étaient symptomatiques. Les analyses de spéciation et de génotypage ont démontré que la contamination maternelle à *Cryptosporidium* sp. n'était pas à l'origine de la contamination de leurs veaux par le même génotype. Ainsi, la contamination de l'environnement des animaux semble l'origine la plus probable. Pratiquement, la sensibilité des tests diagnostiques de terrain (Speed V-Diar 4®) est limitée même si elle est meilleure lorsque les animaux sont symptomatiques. Les approches préventives de vaccination des mères contre les virus et bactéries entériques sont d'efficacité modérées et variables. Ainsi, ce travail, représente l'étude de terrain la plus complète réalisée à ce jour sur la cryptosporidiose et dans les élevages bretons. L'impact sanitaire apparaît de grande ampleur et des conclusions pratiques peuvent être tirées des résultats obtenus.

### Cryptosporidiosis in young calves in France: scientific and practical aspects

COSTA D. (1), RAZAKANDRAINIBE R. (1), PEZIER T. (2), VILLIER V. (1), LACROIX-LAMANDE S. (2), BARBEY S. (3), DENIZOT V. (4), DOZIAS D. (3), LAURENT F. (2), FAVENNEC L. (1)

(1) EA7510 ESCAPE, université de rouen normandie, 76183 rouen, france

Corresponding author : [damien.costa@chu-rouen.fr](mailto:damien.costa@chu-rouen.fr)

### SUMMARY

Health of livestock is essential to optimize production yield. In France, depending on the breed, 10 to 20% of calves do not reach the age of 6 months. Infectious diarrheal diseases are the main causes of death in young animals. Among these, cryptosporidiosis is well documented. However, many questions remain unanswered in France about the prevalence of parasitic strains linked to symptomatology or the mode of contamination of young animals. It was in this context that part of the HealthyCalf project funded by APIS-GENE was built. Data were obtained from 836 calves (Holstein + Charolais) over a period of 4 years. Numerous sanitary and epidemiological data were collected such as: the age of the animals at the time of the microbiological analyses, their sex, the infectious status of their mothers, their symptoms, the performance of curative or preventive treatments. Performances of two diagnostic tests were evaluated for the detection of *Cryptosporidium*. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. DNA detection reached 77% in symptomatic calves, doing it the most represented infectious agent among those studied (*Rotavirus*, *E. coli*, *Coronavirus*). However, only 43% of calves carrying *Cryptosporidium* spp. were symptomatic. Speciation and genotyping analyzes demonstrated that maternal contamination with *Cryptosporidium* sp. was not at the origin of the contamination of their calves by the same genotype. Thus, contamination from environment seems the most probable origin. In practice, the sensitivity of field diagnostic tests (Speed V-Diar 4®) is limited even if it is better when the animals are symptomatic. Preventive approaches to vaccinating mothers against enteric viruses and bacteria are of moderate and variable effectiveness. Thus, this work represents the most complete field study carried out to date on cryptosporidiosis in Breton farms. The health impact appears to be of great magnitude and practical conclusions can be drawn from the results obtained.

## INTRODUCTION

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont des parasites entériques cosmopolites pouvant infecter une grande variété d'hôtes. Il s'agit de l'un des entéropathogènes les plus fréquents chez les veaux de moins de 2 semaines de vie (Thompson et al., 2007). Cliniquement, cela se traduit par une diarrhée non spécifique, souvent accompagnée de déshydratation, anorexie et douleurs abdominales. La transmission se fait par voie fécale-orale par ingestion des oocystes. Les oocystes sont émis dans les selles des animaux infectés, généralement en forte quantité lors des épisodes de diarrhées (Delafosse et al., 2015). La contamination est zoonotique (ou anthroponotique) par contact direct ou indirecte avec les individus infectés (humains et animaux) ou par exposition aux aliments contaminés y compris l'eau. Le seul traitement disponible en Europe pour la cryptosporidiose chez les veaux est le lactate d'halofuginone, d'efficacité partielle, notamment sur l'excrétion parasitaire (Joachim et al., 2003). Si des analyses de facteurs de risque ont été faites au niveau internationale, les données sont discordantes et finalement les données françaises (en particulier concernant les élevages laitiers) sont rares. Le but de ce travail était d'obtenir des données françaises sur la prévalence des infections à *Cryptosporidium* spp. dans des élevages laitiers ; d'évaluer la prévalence simultanée d'autres entéropathogènes (*E. coli*, rotavirus...); de pouvoir évaluer les outils diagnostique disponibles pour la cryptosporidiose bovine ; d'évaluer les voies de transmission bovines et l'influence de la vaccination.

## 1. MATERIEL ET METHODES

Il s'agissait d'une étude prospective réalisée sur une période de 4 ans : de septembre 2017 à décembre 2021. Les élevages ont été sélectionnés selon les critères suivants : race prédominante Holstein ou Charolaise ; potentiel de 40 vêlages pendant la période d'étude ; périmètre de 50 km autour de Carhaix (contrainte délai acheminement laboratoire Labocéa de Quimper en charge des analyses). Prise de contact avec les éleveurs par courrier puis par téléphone. En cas d'accord, l'éleveur s'engageait à signaler les cas cliniques. Les cas cliniques digestifs étaient définis comme suit : veau de 0 à 15 jours d'âge avec signes cliniques digestifs d'apparition brutale (diarrhée). Dès l'inclusion d'un premier cas clinique, un questionnaire était remis à l'éleveur sur ses pratiques d'élevage (Figure 1). Les échantillons de selles étaient recueillis en pots stériles. Les entéropathogènes d'intérêt (*Cryptosporidium*, rotavirus, coronavirus, *E. coli*) ont été recherchés en utilisant le test antigénique speed V diar-4® selon recommandations fabricant. L'ADN a été extrait à partir des selles en utilisant le kit d'extraction DNA powerfecal kit pro de qiagen® selon recommandations fabricant. Puis, une PCR triplex visant à détecter *Cryptosporidium* sp., *C. parvum* et *C. hominis* a été réalisée selon (Hadfield et al., 2011) ; Les échantillons positifs ont été confirmés ou infirmés par séquençage du gène gp60 afin d'identifier les sous-types (Sulaiman et al.,

2005). Les vaccins utilisés par les éleveurs étaient soit le Trivacton®, soit le Rotavec® soit le Bovigen®. Chacun ciblant à la fois le coronavirus, le rotavirus et *E. coli*.

## 2. RESULTATS

### 2.1. PREVALENCE DE CRYPTOSPORIDIUM

Chez les veaux de moins de 2 semaines de vie, la prévalence moyenne observée de la diarrhée était de 39% (Figure 2) et celle de *Cryptosporidium* spp. (détectée par PCR) de 67% (Figure 3). Chez les vaches adultes, l'ADN de *Cryptosporidium* spp. a été détecté dans 29% des cas, sans diarrhée associée. Chez les veaux symptomatiques, l'ADN de *Cryptosporidium* spp. a été détecté par PCR dans 77% des cas contre 53% des cas chez les veaux asymptomatiques. Chez les veaux porteurs de *Cryptosporidium* spp. (détecté par PCR), 43% étaient symptomatiques.

### 2.2. PREVALENCE DES AUTRES PATHOGENES

Chez les veaux, outre *Cryptosporidium* spp. la prévalence des entéropathogènes a révélé une prépondérance d'animaux infectés à rotavirus (Tableau 1).

### 2.3. TEST ANTIGENIQUE VS PCR

Le test antigénique était positif à *Cryptosporidium* spp. dans 64% des cas chez les veaux symptomatiques (vs 77% pour la PCR) et dans 17% (vs 53% pour la PCR) des cas chez les veaux asymptomatiques.

### 2.4. DISTRIBUTION DES ESPECES

A la fois chez les vaches et les veaux, l'espèce largement majoritaire était l'espèce *C. parvum* (90% des cas). Puis, les espèces *C. bovis*, *C. andersoni*, *C. hominis*, *C. ryanae* et *C. meleagridis* ont été observées en faible proportion (<6%). Les analyses précises des génotypes n'ont pas révélé de contamination verticale des animaux : les sous-types divergeaient entre les veaux et leurs mères respectives.

### 2.5. EFFET DE LA VACCINATION

Un effet bénéfique de la vaccination a été observé sur les troubles digestifs des veaux. En effet, 20 % des veaux ont souffert de troubles digestifs si leur mère était vaccinée contre 41 % si la mère n'était pas vaccinée. De plus, le rotavirus a été détecté dans 25% des cas chez les veaux dont la mère n'était pas vaccinée contre 11% des cas quand la mère était vaccinée. Pour le coronavirus, *E. coli* F5 et *E. coli* CS31A, les prévalences étaient plus élevées (mais non significative) chez les veaux dont les mères avaient été vaccinées.

	Rotavirus	Coronavirus	E. coli F5	E. coli CS31A
Prévalence chez les veaux symptomatiques	35% (66/191)	14% (26/192)	7% (13/189)	12% (22/190)
Prévalence chez les veaux asymptomatiques	11% (36/615)	5% (16/310)	5% (15/316)	4% (13/309)

Tableau 1 Prévalence des entéropathogènes autres que *Cryptosporidium* spp. chez les veaux.

QUESTIONNAIRE : PRATIQUES D'ELEVAGE

Numéro de cheptel :	Nom de l'élevage :
Numéro de téléphone :	Adresse mail :
Type de production :	

I. Gestion des problèmes digestifs

- Avez-vous beaucoup de problèmes digestifs ?  
 Veaux de quels âges ?  
 Comment les gérez-vous ?  
 Quelles analyses ont déjà été faites ?
- Vaccination contre les problèmes digestifs ?  
 Quel vaccin ? ..... Depuis quand ? .....
- Avez-vous vu une évolution depuis ?
- Utilisez vous un traitement préventif contre les problèmes digestifs ?  
 Lequel ? Quel protocole ? .....

II. Gestion des problèmes respiratoires

- Vaccination contre les problèmes respiratoires ?  
 Quel vaccin ? ..... Depuis quand ? .....
- Avez-vous vu une évolution depuis ?
- Avez-vous déjà fait des analyses ?

III. Evolutions suite aux résultats V-diar et premières analyses ...

- En avez-vous parlé avec votre vétérinaire ?
- Qu'allez-vous mettre en place ou non dans l'élevage suite à ces résultats ?

Figure 1 Questionnaire sur les pratiques d'élevage distribué aux éleveurs participants à l'étude

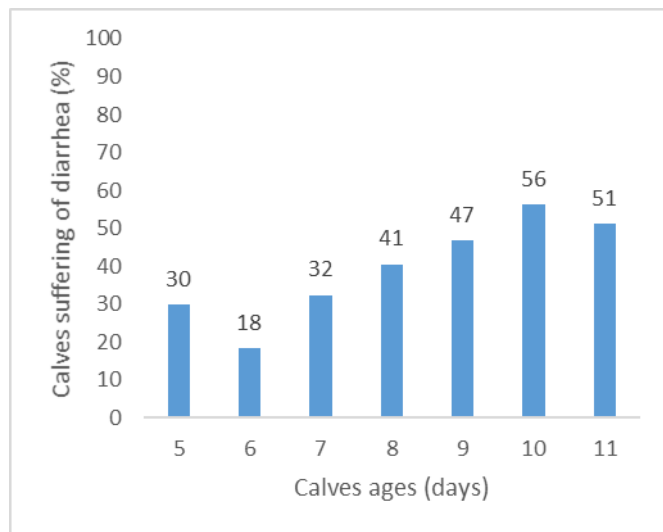


Figure 2 Prévalence de la diarrhée selon l'âge des veaux.

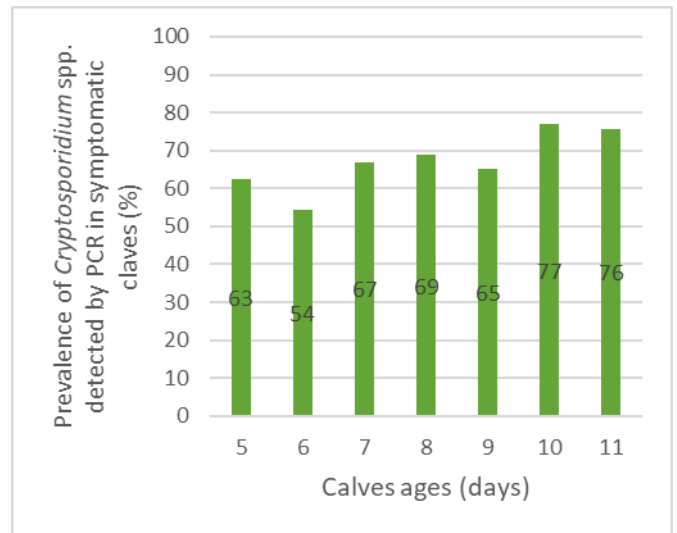


Figure 3 Prévalence de *Cryptosporidium* spp. (détecté par PCR) selon l'âge des veaux.

### 3. DISCUSSION

Conformément à la littérature, en terme de prévalence, la cryptosporidiose a été la première étiologie infectieuse retrouvée chez les veaux parmi celles investiguées (Brunauer et al., 2021).

De plus, les tests antigéniques ont été moins sensibles que la PCR pour la détection de *Cryptosporidium* spp. Néanmoins, les résultats sont plus rapides (15 minutes versus 2 à 3 heures) que pour la PCR. Si les limites de détection des tests antigéniques sont relativement élevées (10 000 oocystes pour *C. parvum*) (Godreau et Millemann 2008), leur performance semble acceptable chez les animaux symptomatiques. En effet, un écart de sensibilité de 13% a été observé entre détection de *Cryptosporidium* spp. par test antigénique (vs PCR) chez les veaux symptomatiques. Cela semble cohérent avec une excrétion massive des oocystes chez les animaux symptomatiques. En terme de diagnostic de terrain, le test antigénique permet donc d'avoir une réponse rapide vis-à-vis de la cryptosporidiose sans pour autant perdre grandement en sensibilité par rapport à la PCR chez les veaux symptomatiques. Contrairement aux données de la littérature laissant supposer une transmission verticale des oocystes entre veaux et mères, les résultats de ce travail ont ici infirmées cette hypothèse. Les données précédentes de la littérature se basant sur une méthodologie incomplète, soit par détection microscopique des oocystes soit par spéciation uniquement (Faubert et Litvinsky 2000). Enfin, les données sur la vaccination suggèrent un effet bénéfique sur la symptomatologie digestive et les infections à rotavirus.

### CONCLUSION

Les données issues de cette étude permettent de compléter la littérature à propos des cas de cryptosporidiose bovine dans les élevages laitiers français. Il en ressort la très forte prévalence de cette infection chez les jeunes animaux ; une transmission probablement liée à la contamination de l'environnement ; une performance satisfaisante des tests antigéniques sur animaux symptomatiques pour étude de terrain et une plus-value de la vaccination sur la symptomatologie digestive des animaux.

*Nous tenons à remercier tous les partenaires de ce projet et en particulier APIS-GENE pour son financement.*

- Brunauer, & al. (2021).** *Animals*, 11(4), 1014.
- Delafosse, & al. (2015).** *Preventive Veterinary Medicine*, 118(4), 406–412.
- Faubert, & al. (2000).** *Journal of Parasitology*, 86(3), 495–500.
- Hadfield, & al. (2011).** *Journal of Clinical Microbiology*, 49(3), 918–924.
- Joachim, & al. (2003).** *Veterinary Parasitology*, 112(4), 277–288.
- Godreau & Millemann. (2008).** *Le Point Vétérinaire n° 284 du 01/04/2008*.
- Sulaiman, & al. (2005).** *Journal of Clinical Microbiology*, 43(6), 2805–2809.
- Thompson, & al. (2007).** *Parasitology Research*, 100(3), 619–624.