

FERTILITE DES VACHES LAITIERES ASSOCIEE AU STATUT DES TROUPEAUX VIS-A-VIS DE L'INFECTION PAR LE VIRUS DE LA DIARRHEE VIRALE BOVINE*

**Aurélie Robert¹, François Beaudeau¹, Henri Seegers^{1,3},
Jean-Michel Philipot² et Alain Joly³**

RESUME : L'objectif de cette étude était de quantifier les différences de fertilité des vaches selon leur appartenance à des troupeaux présumés exposés ou non à une circulation virale récente et en cours ou passée. La fertilité a été évaluée par l'existence ou non d'un retour après l'insémination artificielle (IA), définie par la survenue d'une nouvelle IA. Les retours ont été segmentés en deux composantes selon les mécanismes probables de survenue : les retours trois semaines (de 19 à 25 jours), et les retours tardifs (à partir de 26 jours). Trois statuts de troupeaux ont été déterminés sur la base de quatre résultats quadrimestriels consécutifs de taux d'anticorps dans le lait de tank (i) présumés non exposés à une circulation virale, (ii) présumés exposés à une circulation virale récente et en cours, (iii) présumés exposés par le passé à une circulation virale. Au total, les séquences post-IA de 150 854 IA de rang 1 ou 2 chez 122 697 vaches réparties dans 6 149 troupeaux ont été étudiées. Le risque de retours a été quantifié à l'aide de modèle de régression logistique ou d'analyse de survie. Le statut des troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la BVD n'était pas significativement associé au risque de retours 3 semaines, contrairement au risque de retours tardifs. Les vaches des troupeaux présumés exposés à une circulation virale passée ou récente et en cours présentaient un excès de risque de retours tardifs (respectivement de 3 et 12%) par rapport aux vaches des troupeaux présumés non exposés. En conclusion, l'infection par le virus de la BVD apparaît associée à la survenue de mortalité embryonnaire ou fœtale, mais pas ou très peu à des échecs de fécondation.

SUMMARY : The aim of this study was to quantify the effect associated with the Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) infection status of herds on fertility of dairy cows. Fertility was assessed by a return-to-service, i.e. occurrence (yes/no) of a repeat artificial insemination (AI). Two outcomes variables were considered : (i) 3-week-returns-to-service from 19 to 25 days and (ii) late-returns-to-service from 26 days. BVDV-antibody levels in bulk tank milk were assessed four times at a four-month interval by a blocking ELISA test to define three BVDV-infection-herd-statuses : (i) presumed non-infected herds, (ii) presumed recently-infected herds, (iii) presumed past-infected herds. A total of 150,854 AI of 122,697 cows from 6,149 herds was included in the analysis. The risk of return-to-service was assessed using logistic regression or survival analysis models. BVDV-infection-herd-status was not significantly associated with the risk of 3-week-return-to-service, but significantly with that of late-return-to-service. Cows in herds presumed recently-infected or past-infected had a significantly higher risk of late-return-to-service (Relative Risk of 1.12, 1.03 respectively) compared with cows in herds presumed non-infected. To conclude BVDV-infection was found to mainly increase the risk of embryonic and foetal-death.



* Communication affichée présentée lors des Journées AEEMA-AESA, 22-23 mai 2003

¹ UMR ENVN-INRA Gestion de la santé animale, BP 40706, 44307 Nantes cedex 3, France

² Union régionale des coopératives d'élevage de l'ouest (URCEO), 69 rue de la Motte Brûlon, BP 80225, 35702 Rennes cedex 7, France

³ Union bretonne des groupements de défense sanitaire (UBGDS), GDS 56, 6 avenue Edgar Degas, BP 110, 56003 Vannes cedex, France

I - INTRODUCTION

L'infection des femelles bovines par le virus de la diarrhée virale bovine (BVD) est importante en raison de son impact économique et technique, notamment sur la reproduction. Plusieurs plans d'éradication du virus de la BVD ont déjà été entrepris dans différents pays nordiques comme la Suède [Alenius *et al.*, 1996 ; Lindberg et Alenius, 1999], la Norvège [Waage *et al.*, 1994, 1996], et le Danemark [Bitsch et Rønscholt, 1995]. L'élaboration d'un plan de maîtrise de l'infection pertinent dans les conditions d'élevage français nécessite d'explorer la faisabilité par un raisonnement « avantages/coûts ». A cette fin, il est nécessaire de quantifier à grande échelle les effets sanitaires et zootechniques de l'infection par le virus de la BVD. Des études expérimentales ont rapporté que l'exposition à une circulation virale passée ou en cours en comparaison à l'absence d'infection était associée à des échecs de fécondation et des

défauts de développement du conceptus [revue, voir Baker, 1995]. Ces résultats ne sont cependant pas extrapolables à l'effet de l'infection naturelle sur les performances des troupeaux en conditions courantes d'élevage, du fait notamment des différences de voies d'inoculation ou de souches virales contaminantes utilisées. Il existe à ce jour, à notre connaissance, peu de quantifications de l'impact de l'infection naturelle des troupeaux bovins laitiers sur la fertilité des femelles [McGowan *et al.*, 1993 ; Larsson *et al.*, 1994 ; Moerman *et al.*, 1994 ; Fredriksen *et al.*, 1998 ; Rüfenacht *et al.*, 2001]. De plus, aucune étude de ce type n'a été réalisée dans les systèmes de production rencontrés en France.

L'objectif de cette étude était de quantifier les différences de fertilité des vaches laitières selon leur appartenance à des troupeaux présumés exposés ou non à une circulation virale passée ou récente.

II - MATERIELS ET METHODES

La population d'étude était l'ensemble des troupeaux bovins laitiers des quatre départements bretons (Côtes-d'Armor, Finistère, Ille-et-Vilaine, Morbihan) adhérents au Contrôle Laitier. La période d'étude s'étendait de juin 2000 à octobre 2001.

1. STATUT DES TROUPEAUX VIS-A-VIS DE L'INFECTION PAR LE VIRUS DE LA BVD

Le statut des troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la BVD a été défini sur la base de l'évolution dans le temps de la proportion de vaches séropositives dans le troupeau, estimée à partir du taux d'anticorps anti-BVDV dans le lait de tank mesuré à l'aide d'un kit ELISA compétition (LSI BVD/BD p80 blocking ELISA test – Laboratoire Service International (LSI), Lissieu, France) et exprimé en pourcentage d'inhibition standardisé (en unité centrée et réduite).

Sur la base de quatre résultats de pourcentage d'inhibition quadrimestriels, trois statuts de troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la BVD ont été définis. Les troupeaux présumés non exposés à une circulation virale présentent a priori une faible proportion de vaches séropositives dans le troupeau et donc

un pourcentage d'inhibition standardisé du lait de tank faible et stable. Les troupeaux présumés exposés à une circulation virale récente et en cours présentent a priori une augmentation de la proportion de vaches séropositives dans le troupeau et donc un pourcentage d'inhibition standardisé du lait de tank faible puis élevé. Les troupeaux présumés exposés par le passé à une circulation virale présentent a priori une proportion de vaches séropositives dans le troupeau élevée et donc un pourcentage d'inhibition standardisé du lait de tank élevé et stable.

Les valeurs seuils de pourcentage d'inhibition standardisés ont été choisies à partir d'une étude antérieure [Beaudeau *et al.*, 2001] mettant en relation le pourcentage d'inhibition et la proportion de vaches séropositives dans le troupeau. Les troupeaux présumés non exposés à une circulation virale (NE) ont été définis comme ayant leurs quatre résultats de pourcentages d'inhibition standardisés consécutifs inférieurs à -0,55 (tableau I). Les troupeaux présumés exposés à une circulation virale par le passé (EP) ont été définis comme ayant leurs quatre résultats de pourcentages d'inhibition standardisés consécutifs

supérieurs à +0,55 (tableau I). Pour les troupeaux présumés exposés à une circulation virale récente et en cours (E), l'élévation du pourcentage d'inhibition standardisé a été mesurée selon deux méthodes complémentaires : (i) une valeur seuil pour le troisième résultat de pourcentage d'inhibition (supérieure à 0,1) et (ii) une élévation

importante du pourcentage d'inhibition ($\Delta > 1,25$ - Δ =différence entre le troisième et le deuxième résultat) afin d'inclure les troupeaux pour lesquels il y a bien une augmentation du pourcentage d'inhibition signant une circulation virale, mais à partir de valeurs très faibles de pourcentage d'inhibition (tableau I).

Tableau I
Définition des statuts des troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la diarrhée virale bovine

Statut des troupeaux	Limite du pourcentage d'inhibition standardisé (en unité d'écart type)						
	1 ^{er} résultat	2 ^{ème} résultat	3 ^{ème} résultat	4 ^{ème} résultat			
NE	< - 0,55	et	< - 0,55	et	< - 0,55	et	< - 0,55
EP	> + 0,55	et	> + 0,55	et	> + 0,55	et	> + 0,55
E	< - 0,55	et	< - 0,55	et	> + 0,1	et	> + 0,55
ou E	< - 0,55	et	$\Delta > 1,25$		et	> + 0,55	

Δ = différence entre le troisième et le deuxième résultat de pourcentage d'inhibition standardisé

2. FERTILITE DES VACHES LAITIÈRES

La fertilité a été évaluée par l'existence ou non d'un retour après l'insémination artificielle (IA), défini par la survenue d'une nouvelle IA. Les retours ont été segmentés en deux composantes selon les mécanismes probables de survenue : les retours trois semaines de 19 à 25 jours, et les retours tardifs à partir de 26 jours [Seegers *et al.*, 2001].

Les retours trois semaines sont principalement dus à des échecs de fécondation et à des mortalités embryonnaires précoces. Les retours tardifs sont principalement dus à des mauvaises détections des chaleurs au cycle précédent ou à des mortalités embryonnaires tardives ou fœtales.

Nous avons sélectionné les séquences post-IA exposées à un risque d'infection par le virus de la BVD à partir des dates de réalisation des analyses ELISA. La période à risque d'infection a été définie comme la période entre le deuxième et le troisième résultat de pourcentage d'inhibition. En effet, pour les troupeaux récemment infectés (RE), une élévation du pourcentage d'inhibition entre ces deux points a été observée dans ce laps de temps, ce qui correspondait probablement à une circulation virale. Les modalités de sélection des séquences d'IA ont donc été raisonnées dans le cas des troupeaux récemment infectés et appliquées à l'ensemble

des statuts. Seules les IA survenant pendant la période à risque d'infection ont été retenues. De plus, les vaches ayant un retour avant 19 jours (pour l'étude du risque de retour 3 semaines) ou avant 26 jours (pour l'étude du risque de retour tardif) ont été exclues de l'analyse.

3. FACTEURS D'AJUSTEMENT

Pour tenir compte de facteurs susceptibles d'influencer le risque de retour à l'IA, l'effet de l'infection par le virus de la BVD sur l'occurrence d'un retour à l'IA a été ajusté : du numéro de lactation, du rang d'IA, du délai de mise à la reproduction (mesuré par l'intervalle entre le vêlage et l'IA), de la production laitière (définie comme la moyenne du lait produit aux trois premiers contrôles de la lactation), du déficit énergétique en début de lactation (défini comme le minimum du rapport TP/TB des trois premiers contrôles de la lactation), de la période d'IA, et du taureau d'IA ainsi que du secteur géographique de l'inséminateur (les deux derniers étant inclus dans le modèle en tant qu'effets aléatoires). L'intervalle entre l'IA et le troisième résultat de pourcentage d'inhibition a également été considéré pour tenir compte de la durée réelle d'exposition au risque d'infection.

4. METHODES D'ANALYSE STATIS-TIQUE

Pour quantifier le risque de retour trois semaines, un modèle de régression logistique a été utilisé [GENMOD procédure et GLIMMIX macro, Littel *et al.*, 1998 ; SAS Institute Inc., 1996]. Le risque de retour tardif a quant à lui été évalué en tenant compte de la durée

d'exposition au risque de retour à l'IA, durée qui varie selon les vaches. Ainsi, une analyse de survie a été réalisée en utilisant un modèle de Weibull [Survival Analysis Kit V3.12 ; Ducrocq et Sölkner, 1994 ; 1998]. Le statut des troupeaux de référence vis-à-vis de l'infection était le statut NE.

III- RESULTATS

Au total, 150 874 IA chez 122 697 vaches réparties dans 6 149 troupeaux ont été considérées.

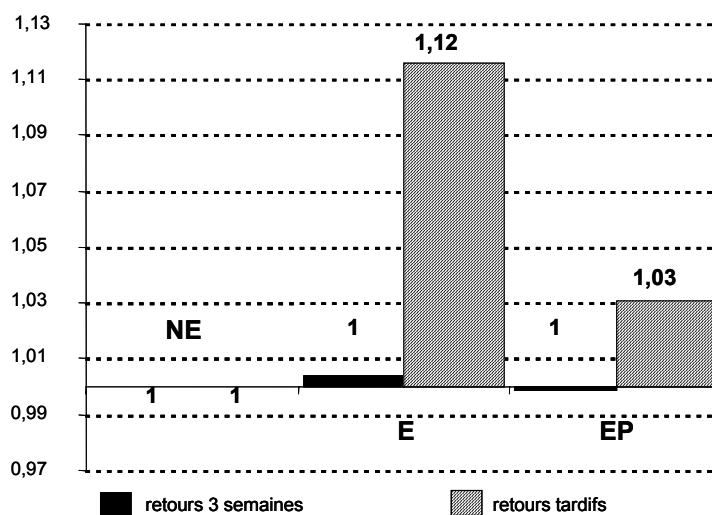
Le statut des troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la BVD n'était pas significativement associé au risque de retour trois semaines. En revanche, il était significativement ($p < 0,0001$) lié au risque de retour tardif (figure 1). Les vaches des troupeaux de statut EP et E avaient un risque de retour tardif significativement augmenté (RR respectivement de 1,03 et 1,12) en

comparaison des vaches des troupeaux NE (figure 1).

Tous les facteurs d'ajustement étaient significativement liés au risque de retours trois semaines et tardif. Le risque de retour était significativement augmenté pour les vaches en quatrième lactation et plus, avec un délai de mise à la reproduction court, une forte production laitière et un déficit en début de lactation élevé. De plus, les vaches les plus à risque avaient une durée d'exposition au risque plus courte (c'est-à-dire un intervalle entre l'IA et le troisième résultat de pourcentage d'inhibition plus court).

Figure 1

Risques relatifs de retours 3 semaines et tardif selon le statut des troupeaux vis-à-vis de l'infection par le virus de la BVD



IV - DISCUSSION

Les effets des facteurs d'ajustement liés aux animaux sur le risque de retours trois semaines et tardifs étaient analogues à ceux rapportés dans des études antérieures [Pinto *et al.*, 2000 ; Seegers *et al.*, 2001].

A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a eu pour objectifs de quantifier

l'effet de l'infection par le virus de la BVD sur le risque de retours trois semaines et tardif.

Dans notre étude, l'infection par le virus de la BVD passée ou récente et en cours n'était pas significativement associée à un risque de retour trois semaines. Les résultats d'études expérimentales sont divergents quant à l'effet de l'infection sur la capacité de l'ovocyte à être

fécondé et de l'embryon à se développer [Grahm *et al.*, 1984 ; Bielanski *et al.*, 1994, 1995, 1998 ; Zurovac *et al.*, 1994 ; Tsuboi *et al.*, 1996 ; Kafi *et al.*, 1997 ; Stringfellow *et al.*, 1997 ; Booth *et al.*, 1998 ; Vanroose *et al.*, 1999]. Ces résultats divergents peuvent être imputables aux différences entre les souches virales utilisées.

Les vaches des troupeaux de statut EP et E avaient un excès de risque de retour tardif significatif de respectivement 3 et 12% en comparaison des vaches des troupeaux NE.

Globalement, l'augmentation du risque de retour tardif dans les troupeaux présumés exposés à une circulation virale récente et en cours est concordante avec les résultats d'études antérieures expérimentales ou non rapportant des mortalités fœtales ou une augmentation du taux d'avortement [Lohr *et al.*, 1983 ; Roeder *et al.*, 1984, 1986 ; Barber *et al.*, 1985 ; Sprecher *et al.*, 1991 ; Larsson *et al.*, 1994 ; Taylor *et al.*, 1997 ; Fredriksen *et*

al., 1998 ; Rüfenacht *et al.*, 2001]. La circulation récente du virus de la BVD augmenterait donc bien le risque de retour tardif. En revanche, l'augmentation du risque dans des troupeaux présumés exposés à une circulation virale passée n'a pas été rapporté par Larsson *et al.* [1994], Moerman *et al.* [1994], Fredriksen *et al.* [1998], Rüfenacht *et al.* [2001]. Ce résultat divergent pourrait être en partie dû à une puissance statistique accrue associée à la taille de notre échantillon d'étude. Ainsi, notre protocole d'étude nous a permis de mettre en évidence des effets de faibles amplitudes s'ils existaient. Une hypothèse quant aux mécanismes biologiques de l'augmentation du risque de retour tardif dans les troupeaux présumés exposés à une circulation virale par le passé est difficile à avancer. Il est toutefois possible d'exclure l'existence d'effet rémanent au niveau ovarien étant donné l'absence d'effet de l'infection sur le risque de retours trois semaines.

V - CONCLUSION

En conclusion, l'infection par le virus de la BVD n'avait pas d'effet significatif sur le risque de retour trois semaines. En revanche, les vaches des troupeaux présumés exposés à une circulation récente et en cours ou passée semblaient avoir une augmentation du risque

de retour tardif comparé aux vaches des troupeaux non exposés. Ainsi, l'infection par le virus de la BVD apparaît associée à la survenue de mortalité embryonnaire ou fœtale, mais pas ou très peu à des échecs de fécondation.

BIBLIOGRAPHIE

- Alenius S, Lindberg A, Larsson B. - A national approach to the control of bovine viral diarrhoea virus. *Proceedings, 3rd European Society for Veterinary Virology, Lelystad, The Netherlands*, 1996, 162-169.
- Barber DML, Nettleton PF, Herring JA. - Disease in a dairy herd associated with the introduction and spread of bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.*, 1985, **117**, 459-464.
- Baker JC. - The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 1995, **11**, 425-445.
- Beaudeau F., Assié S., Seegers H., Belloc C., Sellal E., Joly A. - Assessing the within-herd prevalence of cows antibody-positive to bovine viral diarrhoea virus with a blocking ELISA on bulk tank milk. *Vet. Rec.*, 2001, **149**, 236-240.
- Bielanski A., Loewen K. - In vitro fertilization of bovine oocytes with semen from bulls persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Anim. Reprod. Sci.*, 1994, **35**, 183-189.
- Bielanski A., Dubuc C. - In vitro fertilization of ova from cows experimentally infected with a non-cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus. *Anim. Reprod. Sci.*, 1995, **38**, 215-221.
- Bielanski A., Sapp T., Lutze-Wallace C. - Association of bovine embryos produced by in vitro fertilization with a noncytopathic

- strain of bovine viral diarrhoea virus type II. *Theriogenol.*, 1998, **49**, 1231-1238.
- Bitsch V., Rønsholt L. - Control of bovine viral diarrhoea virus infection without vaccines. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 1995, **11**, 627-636.
- Booth PJ., Collins ME., Jenner L., Prentice H., Ross J., Badsberg JH., Brownlie J. - Noncytopathogenic bovine viral diarrhoea virus (BVDV) reduces cleavage but increases blastocyst yield of in vitro produced embryos. *Theriogenol.*, 1998, **50**, 769-777.
- Ducrocq V., Sölkner J. - « The Survival Kit », a FORTRAN package for the analysis of survival data. *5th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Ontario, Canada*, 1994, **22**, 51-52..
- Ducrocq V., Sölkner J. - « The Survival Kit - V3.0 », a package for large analyses of survival data. *6th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Armidale, Australia.*, 1998, **27**, 447-448.
- Fredriksen B., Odegaard SA., Loken T. - The effect of bovine virus diarrhoea virus on reproduction in recently infected Norwegian dairy herds. *Acta Vet. Scand.*, 1998, **39**, 99-108.
- Grahn TC., Fahning ML., Zemjanis R. - Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *J.A.V.M.A.*, 1984, **185**, 429-432.
- Kafi M., McGowan MR., Kirkland PD., Jillella D. - The effect of bovine pestivirus infection on the superovulatory response of Friesian heifers. *Theriogenol.*, 1997, **48**, 985-996.
- Larsson B., Niskanen R., Alenius S. - Natural infection with bovine virus diarrhoea virus in a dairy herd: a spectrum of symptoms including early reproductive failure and retained placenta. *Anim Reprod. Sci.*, 1994, **36**, 37-48.
- Lindberg A., Alenius S. - Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus BVDV infections in cattle populations. *Vet. Microbiol.*, 1999, **64**, 197-222.
- Littell RC., Henry PR., Ammerman CB. - Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76**, 1216-1231.
- Lohr CH., Evermann JF., Ward AC. - Investigation of dams and their offspring inoculated with a vaccine contaminated by bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 1983, **78**, 1263-1266.
- McGowan MR., Kirkland PD., Rodwell BJ., Kerr DR., Carroll CL. - A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus infection around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenol.*, 1993, **39**, 443-449.
- Moerman A., Straver PJ., De Jong MCM., Quak J., Baanvinger T., Van Oirschot JT. - Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd : a longitudinal study. *Vet. Quart.*, 1994, **16**, 115-119.
- Pinto A, Bouca P, Chevallier A, Freret S, Grimard B, Humblot P. - Source de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. *Renc. Rech. Ruminants*, 2000, **7**, 213-216.
- Roeder PL., Drew TW. - Mucosal disease of cattle: A late sequel to fetal infection. *Vet. Rec.*, 1984, **114**, 309-313.
- Roeder PL., Jeffrey M., Cranwell MP. - Pestivirus fetopathogenicity in cattle : changing sequelae with fetal maturation. *Vet. Rec.*, 1986, **118**, 44-48.
- Rüfenacht J., Schaller P., Audigé L., Knutti B., Küpfer U., Peterhans E. - The effect of infection with bovine viral diarrhoea virus on the fertility of Swiss dairy cattle. *Theriogenol.*, 2001, **56**, 199-210.
- Seegers H., Coulon R., Beaudeau F., Fouchet M., Quillet JM. - Etude descriptive et identification de facteurs de variations de différentes catégories de retours après insémination artificielle en troupeaux laitiers. *Renc. Rech. Ruminants*, 2001, **8**, 357-360.
- Sprecher DJ., Baker JC., Holland RE., Yamini B. - An outbreak of fetal and neonatal losses associated with the diagnosis of bovine viral diarrhoea virus in a dairy herd. *Theriogenol.*, 1991, **36**, 597-606.
- Stringfellow DA., Riddell KP., Brock KV., Riddell MG., Galik PK., Wright JC., Hasler JF. - In vitro fertilization and in vitro culture of bovine embryos in the presence of noncytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenol.*, 1997, **48**, 171-183.
- Taylor LF., Janzen ED., Van Donkersgoed J. - Losses over a 2-year period associated with fetal infection with the bovine viral diarrhoea virus in a beef cow-calf herd in Saskatchewan. *Can. Vet. J.*, 1997, **38**, 23-28.

Tsuboi T., Imada T. - Noncytopathogenic and cytopathogenic bovine viral diarrhoea-mucosal disease viruses do not affect in vitro embryonic development into the blastocyst stage. *Vet. Microbiol.*, 1996, **49**, 127-134.

VanRoose G., Nauwynck H., Van Soom, VanOpdenbosch E., De Kruif A. - Effect of bovine herpesvirus-1 or bovine viral diarrhoea virus on development of in vitro-produced bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, **54**, 255-263.

Waage S., Krogsrud J., Nyberg O. - The Norwegian programme for eradication of

bovine viral diarrhoea/mucosal disease. *Proceedings, 18th World Buiatrics Congress, Bologna, Italy*, 1994, 773-776.

Waage S., Krogsrud J., Nyberg O., Sandvik T. - Results achieved by a national programme for the eradication of bovine viral diarrhoea. *Proceedings, 3rd European Society for Veterinary Virology, Lelystad, The Netherlands*, 1996, 170-172.

Zurovac OV., Stringfellow DA., Brock KV., Riddell MG., Wright JC. - Noncytopathic bovine viral diarrhoea virus in a system for in vitro production of bovine embryos. *Theriogenol.*, 1994, **41**, 841-853



Remerciements

Les données utilisés dans le cadre de cette étude ont été mises à la disposition par le Centre de traitement de l'information génétique (CTIG), la Coopérative agricole morbihannaise d'insémination artificielle (CAMIA), la Coopérative d'insémination animale (CIA) de Pounévèzel (Finistère).