

# Interactions mère-jeune chez les ovins et libération d'ocytocine plasmatique mesurée par dosage immuno-enzymatique

## *Mother-young interaction in sheep and measurement of oxytocin release in the plasma by an enzyme-linked immunosorbent assay*

LAINE A-L. (1), GAUDIN S. (1), CHAILLOU E. (1), CORNILLEAU F. (1), BOIVIN X. (2), COULON M. (2), NOWAK R. (1).

(1) Unité de Physiologie de la Reproduction et des Comportement, INRA, CNRS, IFCE, Université de Tours, 37380 Nouzilly

(2) Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA, Clermont Université, VetAgroSup, 63122 Saint-Genès-Champanelle

### INTRODUCTION

L'ocytocine joue un rôle important dans les relations sociales et l'attachement mère-jeune (Ross *et al*, 2009). Cependant les approches corrélatives entre réponses comportementales et physiologiques reposent sur des techniques de dosage diverses, et des résultats très variables voire contestables. Szeto *et al* (2012) ont mis en évidence la nécessité de l'extraction alors que cette étape est largement absente dans la littérature. Nous avons testé la validité du dosage de l'ocytocine plasmatique par méthode immuno-enzymatique chez le mouton afin de définir les conditions optimales d'utilisation. Ce travail a permis de caractériser les variations de concentration d'ocytocine chez la mère et l'agneau lors de la tétée, et chez des agneaux en allaitement artificiel.

### 1. MATERIEL ET METHODES

L'étude a porté sur 6 agneaux élevés avec leur mère et 3 agneaux en allaitement artificiel, âgés de 1 mois. Durant une heure, les agneaux ont été privés de tétée en coupant la distribution du lait artificiel ou en posant un cache-mamelle sur les brebis. Des prélèvements sanguins ont été effectués, au niveau de la veine jugulaire, à deux moments :

- A la fin de l'heure de privation (niveau de base)
- 1 à 2 minutes après la reprise de la tétée.

Les prélèvements sur tube hépariné et tube EDTA-Aprotinine (inhibiteur des enzymes protéolytiques) ont été immédiatement placés dans la glace puis centrifugés à 3600g pendant 15 minutes à 4°C, les plasmas ont été récupérés et stockés à -20°C. Sur certains échantillons, l'effet des cycles de congélation-décongélation a été testé. L'ocytocine a été dosée à l'aide d'un kit ELISA (kit ADI-901-153, Enzo Life Sciences) après extraction de la molécule sur des cartouches Sep-Pak C18 (Waters). L'exactitude du dosage a été vérifiée par un test de surcharge et par un test de dilution. Pour évaluer la précision du dosage, un échantillon contrôle à 40pg/mL est inclus sur chaque plaque.

### 2. RESULTATS

#### 2.1. VALIDATION DE LA METHODE

Le profil d'exactitude obtenu avec les tests de surcharge et de dilution valide la méthode de dosage (Feinberg, 2009). Le coefficient de variation inter-dosage de l'échantillon contrôle est de 14%, pour une concentration moyenne de 38,7pg/mL, estimé lors de 6 dosages consécutifs. Pour les prélèvements réalisés sur tube hépariné ou tube EDTA+Aprotinine, la concentration d'ocytocine plasmatique obtenue pour chaque type de tube ne montre pas de différence (tableau 1).

Tableau 1 : Concentrations d'ocytocine (en pg/mL).

Effectif n=6	Type de tubes		Congelé-décongelé	
	Héparine	Aprotinine	1 cycle	2 cycles
Médiane	26,5	26,3	26,4	37,6
Moyenne	33,4	31,9	32,7	42,7
Min	14,9	17,0	15,9	21,9
Max	68,4	67,4	67,9	82,6

Par contre, les cycles de congélation - décongélation augmentent la quantité d'ocytocine détectée (test de Wilcoxon,  $W=21$ ,  $p=0,03$ ) (tableau 1).

#### 2.2. EFFET DE LA TETEE

Une augmentation de la concentration d'ocytocine a été observée après la tétée chez les agneaux (Wilcoxon,  $W=45$ ,  $p=0,004$ ) et les brebis ( $W=21$ ,  $p=0,03$ ) (Figure 1). La montée d'ocytocine plasmatique est plus importante chez la brebis que chez l'agneau alors que leur taux de base est plus faible. Les valeurs observées chez les agneaux maternés et les agneaux en allaitement artificiel ne diffèrent pas.

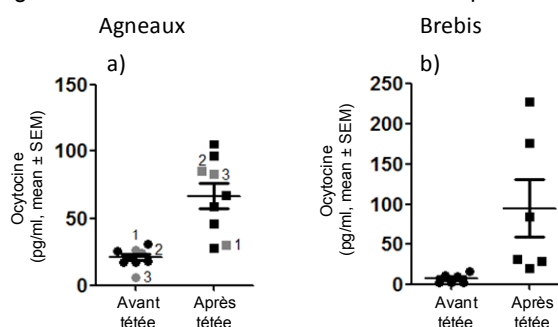


Figure 1 : Concentration plasmatique d'ocytocine avant et après tétée chez l'agneau a) et la brebis b). Les agneaux numérotés sont des agneaux en allaitement artificiel.

### 3. DISCUSSION

#### 3.1. VALIDATION DE LA METHODE

Dans nos expériences, les tubes ont été mis dans la glace dès le prélèvement et centrifugés très rapidement ce qui semble limiter la dégradation de la molécule. Dans ce cas, l'ajout d'aprotinine, limitant la dégradation d'ocytocine, ne semble pas obligatoire. Le coût des tubes EDTA+Aprotinine est particulièrement élevé par rapport aux tubes héparinés (1 € contre 0,15 €). L'utilisation de tube hépariné réduit le coût du dosage de manière significative.

#### 3.2. EFFET DE LA TETEE

L'ocytocine est rapidement libérée dans le plasma après la tétée chez tous les agneaux. Chez la brebis, une variabilité interindividuelle est observée après allaitement. Les différences de concentrations observées entre brebis et agneaux suggèrent que le système ocytocinergique n'est pas encore mûr chez le jeune. La privation alimentaire pourrait aussi entraîner un état de stress. Celui-ci serait responsable d'une élévation des concentrations avant la tétée, ce qui amoindrirait l'intensité de la réponse à l'allaitement.

### CONCLUSION

L'utilisation de kits commerciaux pour le dosage de l'ocytocine ovine a été validée en clarifiant certains aspects méthodologiques. Son application à la relation mère-jeune montre que le système ocytocinergique est activé lors de la tétée. Le rôle qu'il joue dans l'attachement à la mère, et dans la perte de celle-ci lors de la mise en allaitement artificiel, sera à déterminer chez les ovins.

Les auteurs remercient C. Laclie et D. Gennetay.

Feinberg M., 2009. Labostat, Lavoisier Editions.

Roos E.R., et al 2009. Front. Neuroendocrinol., 30, 534-547.

Szeto A., et al , 2012. Psychosom. Med., 73 (5), 393-400