

Peut-on évaluer le stress chronique en dosant le cortisol dans le poil des chèvres ? Can chronic stress be evaluated by measuring cortisol in goat hair?

DHUMEZ O. (1), FICHEUX C. (2), PONTER A. (2), ROUSSEL S. (1, 3), DUVAUX-PONTER C. (1)

(1) UMR 791 INRA-AgroParisTech Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants (MoSAR), F-75005 Paris, France

(2) UMR 1198 INRA-ENVA Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

(3) IUEM-UBO, UMR CNRS 6539, Technopôle Brest-Iroise, Place Nicolas Copernic, F-29280 Plouzané, France

INTRODUCTION

Les animaux d'élevage peuvent être confrontés à des situations stressantes pouvant impacter leur bien-être. Chez l'homme, le cortisol des cheveux pourrait être un bon indicateur du stress chronique (Yamada *et al.*, 2007). Nous avons cherché à mettre au point une méthode d'évaluation non invasive du stress chez la chèvre par dosage du cortisol dans le poil après simulation de stress chronique par injections d'ACTH.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Vingt-quatre chèvres laitières ont reçu soit des injections intraveineuses de 1,1 mL de sérum physiologique (TEM), soit des injections intraveineuses de 0,5 UI /kg poids vif de Synacthène immédiat (IMM), soit des injections intramusculaires de 1 UI / kg poids vif de Synacthène retard (RET). Une injection était réalisée tous les 2-3 jours à 8h00 pendant cinq semaines, soit 15 injections au total par chèvre.

1.2 PRELEVEMENTS DES ECHANTILLONS

Avant la première injection, les chèvres ont été rasées sur 100 cm² au niveau de la croupe. A la fin des 5 semaines, le poil de repousse a été récupéré. Des cinétiques de sang ont été réalisées lors de la 1^{ère} et 15^{ème} injection : juste avant l'injection puis 30 min, 60 min, 120 min, 240 min, 480 min après, à l'aide de vacutainers héparinés. Les plasmas ont été immédiatement récupérés et congelés à -20°C. Des prélèvements de lait ont été réalisés à la traite du soir (7 h post-injection) et du matin suivant lors des 1^{ère}, 3^{ème} et 5^{ème} semaines et conservés à -20°C.

1.3 PRETRAITEMENT DES ECHANTILLONS DE LAIT

Après décongélation à 30°C, 4 mL de lait ont été centrifugés 20 min à 2400 g. Trois mL de lait écrémé ont été ajoutés à 4 mL d'éthyl acétate, agités 10 min puis centrifugés 5 min à 1000 g. Le surnageant (3,5 mL) a été évaporé à froid. Les culots ont été récupérés dans 350 µL de solution diluante (réf 11732277122, Roche, Meylan, France) puis mis au bain marie 5 min à 50°C. Le cortisol a été dosé dans le surnageant après centrifugation 5 min à 1000 g.

1.4 EXTRACTION ET DOSAGE DU CORTISOL DU POIL

Environ 100 mg de poil ont été préalablement lavés pendant 3 min avec 5 mL d'isopropanol par agitation douce. L'isopropanol a été éliminé et les tubes ont été séchés à température ambiante. Le poil a ensuite été broyé avec un broyeur à billes 5 min à 100 Hz. Les broyats ont été pesés, additionnés de 2 mL de méthanol et placés 30 min dans une cuve à ultrasons. Après une nuit dans une étuve à 50°C, les tubes ont été refroidis et 0,5 mL de méthanol a été ajouté.

Après agitation douce, les tubes ont été centrifugés 15 min à 2000 g, un volume identique dans chaque tube a été récupéré et mis à évaporer à froid. Les culots obtenus ont été récupérés dans 350 µL de solution diluante (Roche) et centrifugés 2 min à 2000 g. Le cortisol a été dosé dans les surnageants.

1.5 DOSAGE DU CORTISOL

Le cortisol a été dosé à l'aide d'un kit (réf 11875116122, Roche) sur un auto-analyseur Elecsys 20-10 (Roche).

2. RESULTATS

L'aire sous la courbe en cortisol plasmatique des traitements IMM et RET a été plus élevée que pour TEM (P<0.001) sur les 8h suivant l'injection. Cependant, 4h et 8h après injection, les concentrations en cortisol plasmatique (nmol/L) étaient plus élevées pour le traitement TEM que pour IMM et RET (TEM, IMM et RET respectivement à 4h : 15,3 ± 2,39 ; 5,5 ± 0,91 ; 6,2 ± 1,27, P<0,001 et à 8h : 7,6 ± 1,74 ; 2,6 ± 0,56 ; 3,4 ± 0,96, P=0,01). Une augmentation de l'aire sous la courbe entre la 1^{ère} et la 5^{ème} semaine a été observée pour le traitement IMM (P<0,001). Les concentrations en cortisol du lait n'ont pas été modifiées par les traitements, sauf pour la traite du soir du traitement TEM dont la concentration était plus élevée que celles des traitements IMM et RET (P<0,001). La concentration en cortisol du poil n'a pas différencié entre les traitements (P>0,05) (Figure 1).

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les injections d'ACTH ont bien déclenché la sécrétion de cortisol chez les chèvres comme le montre l'augmentation de cortisol plasmatique. Cependant, cette augmentation n'a pas été retrouvée dans le lait ou le poil. La concentration en cortisol plus élevée lors des traites du soir du traitement TEM pourrait s'expliquer par une rétroaction négative du cortisol sur le complexe hypothalamo-hypophysaire importante pour les traitements IMM et RET. En effet, une concentration plasmatique plus faible a été observée pour les traitements IMM et RET par rapport à TEM, 4h et 8h après injection. Même si nous avons induit une production de cortisol par les injections d'ACTH, nous n'avons pu mettre en évidence une différence de concentration dans le poil. Soit nous n'avons pas induit une production de cortisol sur des durées suffisamment longues pour la retrouver dans le poil soit le cortisol du poil n'est peut-être pas un bon indicateur du stress chronique chez les chèvres.

Les auteurs remercient l'équipe de la chèvrerie de MoSAR.

Yamada, J., Stevens, B., de Silva, N., Gibbins, S., Beyene, J., Taddio, A., Newman, C., Koren, G., 2007. *Neonatology*, 92, 42-

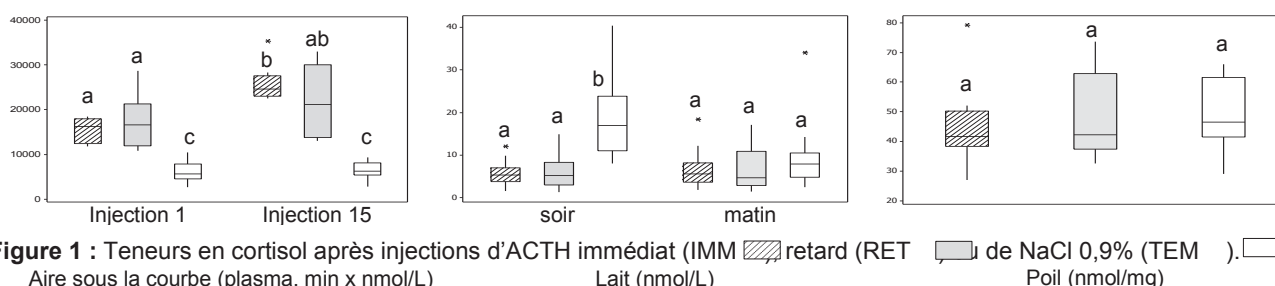


Figure 1 : Teneurs en cortisol après injections d'ACTH immédiat (IMM) retard (RET) de NaCl 0,9% (TEM). Aire sous la courbe (plasma, min x nmol/L) Lait (nmol/L) Poil (nmol/mg)