

ENDOCRINOLOGIE. — *Le dosage radio-immunologique de la progestérone plasmatique chez la Vache* (¹). Note (*) de M. Jean-François Beckers, M^{lle} Patricia Ballman, MM. Francis Ectors et Jules Derivaux, transmise par M. Marc Herlant.

Le dosage de la progestérone chez la Vache a été réalisé par la méthode radio-immunologique sans purification préalable. Le taux de progestérone varie de 0,60 ng/ml le jour de l'œstrus à 6,4 ng/ml durant la phase d'activité maximale du corps jaune. En fin de cycle œstral, la chute du taux de progestérone est rapide (24 h) et elle survient 48 à 72 h avant les chaleurs.

Nous avons procédé à la détermination de la progestérone plasmatique sur 1 408 échantillons provenant de 15 vaches Pie-noire, normalement cyclées, en recourant à une méthode radio-immunologique sans purification préalable. Nous en rapportons les modalités et les premiers résultats.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — 50 ou 100 µl de plasma sont additionnés de 3 ml d'hexane fraîchement distillé. Ce mélange est secoué pendant 20 mn puis centrifugé à 3 000 tours et à 4° ; 2 ml de l'hexane surnageant sont ensuite repris et soumis à évaporation dans une étuve à dépression.

L'extrait est alors additionné de l'hormone marquée et de l'antisérum puis placé au bain-marie à 37° pendant 1/2 h. Il est ensuite maintenu au frigo à 4° pendant quelques heures, voire toute une nuit.

Toutes les manipulations ultérieures doivent s'effectuer à une température voisine de 0° centigrade, pour ce faire les tubes sont placés dans un bac contenant de la glace fondante.

L'élimination de la fraction libre de l'hormone marquée est réalisée par addition à chaque échantillon de 0,5 ml d'un mélange de charbon-Dextran qui est maintenu en contact pendant 10 mn. L'échantillon est ensuite centrifugé et 0,5 ml du surnageant sont repris et placés dans une fiole de comptage renfermant 10 cc de liquide scintillant.

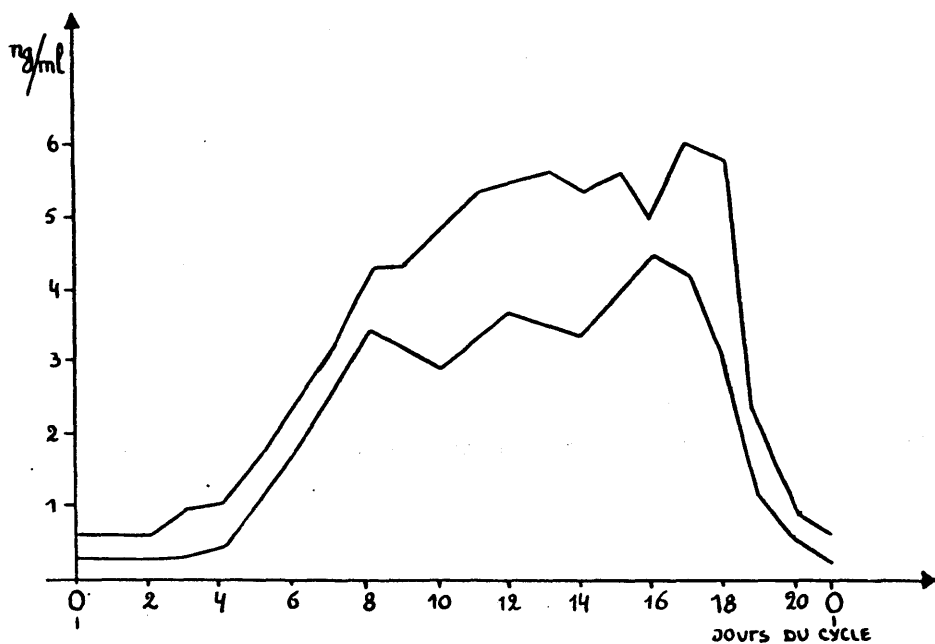
Réactifs :

- Hexane LAB redistillé avant l'emploi.
- Le mélange charbon-Dextran est constitué de 130 mg de charbon Norit A, 13 mg de Dextran T 70 et 60 ml de tampon.
- Tampon : Tris 0,025 Mol. + gélatine 0,2 % à pH 7,6.
- Hormone marquée : progestérone 1,6 ³H dont l'activité spécifique est de 26 curies par millimole et utilisée à raison de 3 nanocuries par tube.

RÉSULTATS. — Les 1 408 échantillons de plasma dosés sont répartis sur 50 cycles œstraux. Le tableau représente la moyenne journalière de ces différents cycles. Lors d'une durée de cycle supérieure à la normale (21 jours) les jours excédentaires ont été regroupés et indiqués sous la rubrique jour 15 et +. L'analyse de ces résultats permet

TABLEAU

Jour du cycle	Taux moyen de progestérone en ng/ml	Ecart type
— 5	6,0	2,1
— 4	6,14	2,3
— 3	4,92	2,1
— 2	1,06	0,6
— 1	0,87	0,6
0 ou œstrus	0,60	0,3
1	0,72	0,3
2	0,61	0,4
3	0,95	0,5
4	1,05	0,7
5	2,25	1,1
6	2,59	1,3
7	4,29	1,8
8	4,33	2,2
9	5,39	2,4
10	5,03	2,0
11	6,14	2,4
12	5,84	2,3
13	6,61	2,2
14	6,09	2,3
15 e' plus	7,19	2,3



Variation du taux de progestérone en fonction du cycle œstral chez 2 vaches différentes

de matérialiser les diverses phases d'activité du corps jaune qui peuvent être ainsi réparties :

a. Phase d'activité minimale correspondant à la période s'étendant du jour — 2 au jour + 4 avec comme valeur minimale 0,6 ng/ml au jour 0 et des valeurs respectives de 1,06 et 1,05 ng/ml aux jours — 2 et + 4.

b. Phase ascensionnelle s'étendant du jour + 4 au jour + 7 avec des valeurs de 1,05 à 4,29 ng/ml.

c. Phase d'activité maximale allant du jour + 8 au jour — 4 avec des valeurs de 4,33 à 6,14 ng/ml.

d. Phase de régression, très rapide, allant du jour — 3 au jour — 2 avec des valeurs de 4,92 à 1,06 ng/ml.

DISCUSSION. — Nous avons utilisé deux antisérums, l'un le n° 3865 nous a été offert par les Laboratoires Roussel-UCLAF (6) tandis que l'autre le n° P 45 a été préparé dans notre Laboratoire et présente les réactions croisées suivantes : 7,2 % avec la pregnénolone, 5,27 % avec la 17- α -hydroxyprogestérone, 1,5 % avec la 20- β -hydroxyprogestérone et 0,8 % avec la testostérone.

Le pourcentage d'extraction varie entre 90,8 et 92,2 % suivant qu'il est calculé en ajoutant soit de l'hormone froide, soit de l'hormone marquée à du plasma débarrassé des stéroïdes par traitement au moyen d'un mélange charbon-Dextran.

La sensibilité calculée dans les conditions de notre dosage est de 19,5 pg. La reproductibilité se caractérise par un coefficient de variation de 10,25 % dans un même dosage et de 13,15 % d'un dosage à l'autre.

Les nombres que nous avons obtenus sont assez semblables à ceux signalés par la littérature [(2) à (5)] bien que les techniques utilisées soient fort différentes : double dilution isotopique, chromatographie en phase gazeuse et liaison aux protéines.

Thibier et coll. (5) utilisent la méthode radio-immunologique et signalent des taux allant de 0,13 à 0,15 ng/ml en phase folliculinaire et de 7,4 à 9,4 ng/ml en phase lutéale.

Les écarts types mentionnés au tableau peuvent paraître élevés ; ils s'expliquent par le fait que chez une même vache, et à plus forte raison d'une vache à l'autre, les taux maximaux de progestérone subissent d'assez larges variations au cours de différents cycles (*fig.*).

Ces variations s'observent exclusivement pendant la phase d'activité maximale du corps jaune ; cette dernière se caractérise chez certains animaux par un taux de 4 ng/ml alors que chez d'autres, elle atteint 9 voire 11 ng/ml. Par contre, il convient de remarquer la relative stabilité de la phase d'activité minimale puisque les taux de base restent toujours inférieurs à 1,5 ng/ml.

La chute du taux de progestérone est rapide et ne dure pas plus de 24 h, elle se produit en général du jour — 3 au jour — 2 ; chez certaines vaches cependant cette chute peut survenir un ou deux jours plus tôt et même parfois un jour plus tard.

CONCLUSION. — Le dosage radio-immunologique permet de doser facilement la progestérone chez la Vache après une simple extraction à l'hexane sans recourir à des purifications ultérieures. La sensibilité et la reproductibilité sont excellentes si l'immunsérum est suffisamment spécifique.

Les variations du taux de progestérone au cours du cycle œstral peuvent être réparties en quatre périodes :

- Taux de base : 1,06 ng/ml au jour — 2 ; 0,6 ng/ml au jour 0 et 1,05 ng/ml au jour — 4.
- Ascension : 1,05 à 4,29 ng/ml du jour + 4 au jour + 7.
- Taux maximal : 4,33 à 6,14 ng/ml du jour + 8 au jour — 4.
- Chute de 4,92 à 1,06 ng/ml du jour — 3 au jour — 2.

(*) Séance du 16 décembre 1974.

(1) Travail réalisé grâce à l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA, rue de Crayer, 6, Bruxelles).

(2) M. SHEMESH, H. R. LINDNER et AYALON, *J. Reprod. Fert.*, 26, 1971, p. 167.

(3) R. B. SNOOK, R. R. SAATMAN et W. HANSEL, *Endocrinology*, 88, 1971, p. 678.

(4) R. P. WETTEMANN, H. D. HAFS, L. A. EDGERTON et L. V. SWANSON, *J. Anim. Sc.*, 34, 1972, p. 1020.

(5) M. THIBIER, M. CASTANIER, NGOAN TECK TEA et R. SCHOLLER, *Comptes rendus*, 276, Série D, 1973, p. 3049.

(6) Les laboratoires Roussel-UCLAF nous ont fait don de ce matériel.

Laboratoire du Professeur J. Derivaux,
45, rue des Vétérinaires,
1070 Bruxelles, Belgique.