

8 Mars 1989



**DOSAGE RAPIDE DE LA PROGESTERONE DANS LE PLASMA DE JUMENT :**  
**INTERET PRATIQUE, ESSAI DE DEUX DOSAGES**  
**IMMUNOENZYMATIQUES IMMEDIATS.**

M. VIDAMENT, Dr. vétérinaire  
 Institut du Cheval - INRA NOUZILLY  
 37380 MONNAIE

**RESUME**

L'intérêt de deux tests ELISA de mesure de la progestérone, RPT et CITE, a été testé par rapport à des dosages RIA déjà validés. En utilisant un seuil de 2 ng/ml, le pourcentage des réponses identiques entre RPT et un dosage RIA qualitatif a été de 92% (n=39) et 98% (n=93) pour les prélèvements négatifs, et de 92% (n=39) et 76% (n=37) pour les prélèvements positifs, ceci dans 2 essais différents. De même en comparaison d'un dosage RIA quantitatif, CITE a détecté 98% (n=53) des prélèvements bas et 94% (n=53) des prélèvements élevés.

Mots-clés : PROGESTERONE - ELISA - RIA - JUMENT

**SUMMARY**

In an attempt to check their value as an aid for breeding, two ELISA progesterone assays, RPT and CITE, were compared to previously validated RIA assays. Using a 2 ng/ml cut off point, agreement between RPT and qualitative RIA were 92% (n=39) and 98% (n=93) for the negative samples, and 92% (n=39) and 76% (n=37) for the positive samples, in two different trials. A similar approach with CITE demonstrated agreement between this assay and quantitative RIA in 98% (n=53) of low level samples and 94% (n=53) of high level samples.

Key-words : PROGESTERONE - ELISA - RIA - MARE

**INTRODUCTION**

Le dosage de la progestérone plasmatique peut rendre de nombreux services dans la gestion de la reproduction des juments: diagnostic de cyclicité, mise en évidence d'un corps jaune persistant ou de chaleurs silencieuses, diagnostic de gestation.

Notre laboratoire réalise en routine un dosage radioimmunologique (radioimmunoassay ou RIA) rapide (2 jours) de la progestérone plasmatique donnant une réponse qualitative simple (positive, douteuse, négative)(technique de TERQUI et THIMONIER<sup>19</sup>, adaptée à la jument).

Devant l'apparition des kits de dosage immunoenzymatique (enzyme immunoassay ou enzyme-linked immunosorbent assay ou ELISA) qui sont par excellence des dosages de terrain, une mise au point est nécessaire sur l'utilisation du dosage rapide en pratique courante.

Le dosage RIA rapide d'une autre hormone, les oestrogènes, permettant un diagnostic de gestation très fiable de 90 jours au terme a fait l'objet d'un article de vulgarisation récent<sup>21</sup>.

## I . INTERET PRATIQUE DU DOSAGE QUALITATIF DE LA PROGESTERONE

### A . LE TAUX DE PROGESTERONE PLASMATIQUE CHEZ LA JUMENT

Les taux de la progestérone chez la jument vide et chez la jument pleine 1, 3, 7, 13, 14, 18, 17 sont résumés dans la figure I.

La transition entre 1 et 2 ng/ml est obligatoire pour passer entre :

- des phases de progestérone basse (< 1 ng/ml) où il n'y a pas de corps jaune sécrétant,
- et des phases de progestérone haute (> 3 ng/ml) où il y a sécrétion d'un corps jaune (cyclique, persistant ou de gestation).

Comme la valeur 1 ng/ml est proche du 0 dans un dosage peu sensible, il vaut mieux choisir 2 ng/ml comme seuil de positivité. C'est ce seuil qui est utilisé dans le dosage RIA rapide pratiqué par notre laboratoire. Les valeurs proches de 2 ng/ml sont dites douteuses.

Suivant les caractéristiques des dosages, les 5 -pregnanes (progestagènes sécrétés pendant la gestation et abondants entre 200 et 320 jours) peuvent croiser ou non avec la progestérone<sup>7</sup>. Le dosage RIA rapide de notre laboratoire reste constamment positif pendant la gestation, il doit doser en partie ces progestagènes.

### B . UTILISATIONS D'UN DOSAGE QUALITATIF 11, 13, 14, 16, 18, 20

La palpation des ovaires, de l'utérus et l'échographie donnent des renseignements plus précis sur l'état physiologique des juments, mais le dosage de la progestérone peut rendre des services quand :

- la jument est impossible à examiner par voie rectale,
- localement, l'éleveur ne peut disposer des services d'un vétérinaire expérimenté en gynécologie équine,
- malgré la palpation et l'échographie, il subsiste un doute sur l'état physiologique exact de la jument.

Les caractéristiques du dosage RIA rapide de notre laboratoire nous permettent d'envisager les utilisations suivantes.

#### 1 . Chez la jument non saillie (Tableau 1)

Un dosage hebdomadaire permet de suivre les différents cycles d'une jument avec une assez bonne précision, en fait seul le dosage bihebdomadaire permet de ne "louper" aucune ovulation lorsque les oestrus sont très courts en fin de saison de monte.

#### 2 . Suivi d'ovulation (Tableau 1)

Les indications du dosage sur le jour exact de l'ovulation seront peu précises par rapport à la palpation et à l'échographie.

#### 3 . Chez la jument saillie

##### a . Diagnostic de non-gestation

C'est la seule indication du dosage.

La prise de sang est à réaliser 18 jours après le dernier saut. Le dosage est négatif: la jument est vide, le diagnostic est fiable à 100%. Le dosage est positif: la jument est présumée pleine, le diagnostic n'est fiable qu'à 60% si la jument n'est pas encore revenue en oestrus,<sup>14</sup>. En effet, elle peut présenter un corps jaune cyclique (soit une deuxième phase lutéale après un cycle très court ou soit au contraire une première phase lutéale anormalement longue) ou un corps jaune persistant.

Seule la palpation ou l'échographie permettra de différencier un corps jaune persistant d'une gestation.

Pour plus de sécurité, deux prélèvements à 16 et 20 jours permettront de mieux détecter les juments vides, surtout s'il n'y a pas de détection de chaleur<sup>14</sup>.

b . Pour prévenir les avortements , aucune étude concluante n'a montré que la supplémentation en progestérone était efficace 1, 9, 10, 18.

Les études sur les pertes du 12ème au 15ème jour privilégient l'hypothèse du rôle lutéolytique de l'environnement utérin par rapport à une déficience primaire du corps jaune 6, 8, 9, 18. Après 40 jours, le maintien de la sécrétion du corps jaune dépendrait d'un facteur foetal 1, 2. La baisse de la progestérone associée aux avortements est-elle une cause ou une conséquence de la mortalité du fœtus ?

## II . LES DOSAGES ELISA DE LA PROGESTERONE TESTES

### A . PRINCIPE GENERAL DE CES TESTS

Des anticorps anti-progestérone sont fixés sur la paroi d'un tube ou au fond d'une cupule. La progestérone contenue dans le prélèvement à doser va venir se fixer sur les anticorps anti-progestérone. De la progestérone portant une enzyme est ensuite additionnée, celle-ci va combler les sites laissés libres par la progestérone du prélèvement et rentrer en compétition avec la progestérone du prélèvement fixée au niveau des sites. Plus il y aura de progestérone dans le prélèvement, moins de progestérone portant l'enzyme pourra se fixer. Un réactif coloré sensible à l'enzyme de marquage met en évidence la plus ou moins grande quantité de progestérone marquée et fixée. On compare à l'oeil ou avec un photomètre cette intensité de couleur à celle obtenue avec une ou plusieurs références connues.

### B . ESSAI D'UN DOSAGE QUALITATIF : RPT(ND)\*

(\*Rapid Progesterone Test fabriqué par Immucel, Portland, Maine, 04103 USA et distribué en France par Rhône Mérieux)

#### 1 . Matériel et méthodes

##### a . Réalisation des dosages RPT

- Pour adapter ce test au plasma de jument, le mode d'emploi a été modifié pour les 2 éléments suivants :

utilisation d'une référence différente : plasma de jument castrée additionné de 2 ng/ml de progestérone, décongelé pour chaque séance de dosage,

emploi d'un volume de 1 ml (essai laboratoire) et de 0,68 ml (essai terrain) pour les plasmas à doser et la référence.

- le temps de réalisation de ce test comprend 20 minutes pour mettre les réactifs à température ambiante et 5 minutes par test. On peut traiter 3 prélèvements à la fois. Les réponses sont lues soit à l'oeil (réponses évidentes), soit avec un petit photomètre : positive ou négative, il n'y a pas possibilité de réponse douteuse.

##### b . Essai laboratoire

25 juments (5 juments X 5 troupeaux recevant chacun une alimentation différente) ont été prélevées une fois par semaine pendant 4 à 6 semaines pour diagnostic de cyclicité. Les 123 plasmas obtenus ont été dosés :

- 2 fois en RIA rapide

- 1 fois avec RPT (2 manipulateurs et 6 séances de dosage)

On a défini les phases suivantes d'après les résultats en RIA rapide : pour une jument, une phase de progestérone haute représentera

un ou plusieurs prélèvements de suite à réponse positive, de même pour les phases de progestérone basse avec les réponses négatives.

### c .Essai terrain

Des juments lourdes gérées en monte par synchronisation des chaleurs ont été prélevées systématiquement en début de semaine d'insémination pour s'assurer qu'elles étaient bien en chaleur. Les 131 plasmas obtenus ont été dosés :

- 2 fois en RIA rapide
- 1 fois avec RPT (1 seul manipulateur et environ 18 séances de dosage)

## 2 . Résultats (Tableaux 2a et 2b)

- L'accord entre les réponses avec RPT et avec RIA rapide a été de : 99% (n=79) et 98% (n=93), respectivement pour l'essai laboratoire et l'essai terrain pour les prélèvements bas en progestérone par RIA,

92% (n=39) et 76% (n=37), respectivement pour l'essai laboratoire et l'essai terrain pour les prélèvements hauts en progestérone par RIA. (différence significative dans la détection des prélèvements hauts entre l'essai laboratoire et l'essai terrain ( $P < 0,05$ )).

- Utilisation du test en diagnostic de cyclicité dans l'essai laboratoire: RPT a permis de détecter 95% (n=21) des phases hautes et 97% (n=31) des phases basses.

## C . ESSAI D'UN DOSAGE SEMI-QUANTITATIF : CITE EQUINE PROGESTERONE (ND)\*\*

(\*\*Fabriqué par IDEXX, Portland, ME 04101, USA et commercialisé en France par Rhône-Mérieux)

### 1 . Matériel et méthodes

#### a . Réalisation du dosage CITE -

Le mode d'emploi a été strictement appliqué. Le temps de réalisation est de 20 minutes pour mettre les réactifs à température ambiante et de 10 minutes par dosage (un seul prélèvement à la fois). La lecture se fait à l'oeil en comparant les couleurs de deux spots calibrés (à 1 et à 4 ng/ml) à celle d'un spot de contrôle. Les réponses possibles sont <1, =1, 1à4, =4 et >4.

#### b . Essai laboratoire

12 juments (4 juments X 3 troupeaux recevant chacun une alimentation différente) ont été prélevées 1 à 2 fois par semaine pendant 3 à 5 semaines pour diagnostic de cyclicité. Les 54 plasmas obtenus ont été dosés :

- 1 fois en RIA rapide
- 1 fois en RIA quantitatif en double (technique décrite par SAUMANDE et al 15)
- 1 fois avec CITE (1 manipulateur et 3 séances de dosage)

#### c . Essai terrain

21 juments (3 juments X 7 haras) ont été prélevées 1 fois par semaine pendant 3 à 4 semaines pour diagnostic de cyclicité. Les 68 plasmas obtenus ont été dosés :

- 1 fois en RIA rapide
- 3 fois en RIA quantitatif en double
- 1 fois avec CITE (7 manipulateurs et 2 à 4 séances de dosage par manipulateur)

#### d . diagnostic de cyclicité

On a défini les phases suivantes d'après les moyennes des résultats en RIA quantitatif: pour un jument, une phase de progestérone haute représentera un ou plusieurs prélèvements de suite de plus de 3 ng/ml, de même une phase de progestérone basse représentera un ou plusieurs prélèvements de suite de moins de 1 ng/ml.

#### 2 . Résultats (Tableau 3)

L'essai laboratoire et l'essai terrain ont été cumulés.

- 4 dosages CITE sur 122 réalisés ont été ininterprétables: les prélèvements concernés étaient de valeur variable (0,2 , 5,2 , 13,9 et 13,9 ng/ml). Trois cas proviennent de la même séance de dosage de 3 prélèvements avec une coloration diffuse autour des spots empêchant la lecture.

- Comparaison entre CITE et RIA quantitatif

Dans une comparaison stricte, CITE a détecté 94% (n=51), 27% (n=15), 88% (n=52) des prélèvements respectivement  $\leq 1$ , de 1 à 4 et  $\geq 4$  ng/ml en RIA.

Plus précisément, 98% (n=53) des résultats notés  $< 1$  ou  $= 1$  par CITE sont au plus égaux à 1,35 ng/ml, 94% (n=53) des résultats notés  $= 4$  ou  $> 4$  par CITE sont au moins supérieurs à 3,6 ng/ml. Il y a une erreur manifeste dans l'essai terrain : un prélèvement à 0,8 ng/ml a été noté par CITE  $> 4$ .

Parmi les 12 résultats notés  $\geq 4$  par CITE, seulement 4 se trouvent dans la zone 1 à 4 ng/ml. L'ensemble de ces résultats s'étage de 0,5 à 6,2 ng/ml; 5 des 6 prélèvements de valeur réelle supérieure à 5,5 ng/ml proviennent de 2 juments.

- Utilisation du test en diagnostic de cyclicité :

CITE a permis de détecter 93% des phases hautes (n=31) et 91% des phases basses (n=32). Une seule erreur manifeste de détection de phase (phase notée haute par CITE et en fait basse) ,due à l'erreur déjà notée plus haut se retrouve parmi les 4 phases mal détectées, les 3 autres phases n'ont pas été mises en évidences par CITE car elles ont été notées  $\geq 4$ .

#### D . DISCUSSION

En RIA rapide, 96% (n=264) des prélèvements ont donné la même réponse (positive, douteuse et négative) dans deux dosages RIA rapides différents. En comparant le dosage RIA rapide avec le dosage RIA quantitatif, 98% (n=61) des dosages positifs étaient au moins égaux à 3,6 ng/ml, 100% (n=54) des dosages négatifs étaient au plus égaux à 1,35 ng/ml, 4 sur les 5 prélèvements notés douteux se sont trouvés immédiatement autour de 2 ng/ml, un seul a un dosage de 3 ng/ml.

D'autres tests ELISA de la progestérone ont été essayés chez la jument sur le plasma ou le serum et sur le lait. Il s'agissait de dosages soit quantitatifs 5, 11, 16, 20, soit qualitatifs<sup>11</sup>.

Le test RPT est très simple et très rapide à utiliser. La mise en évidence des prélèvements bas a été très bonne : 98% (n=172), par contre il y a eu un nombre non négligeable de faux négatifs dans l'essai terrain. Pour expliquer cela, on peut retenir une ou plusieurs des hypothèses suivantes: mauvaise conservation de la référence, volume inadéquat (1 ml dans l'essai laboratoire et 0,68 ml dans l'essai terrain), mauvaise manipulation du test, erreur due à des protéines du plasma qui interfèrent avec le dosage (juments Trait Breton élevées dans des conditions semblables) ou mauvaise conservation des test.

Du fait de sa conception pour le diagnostic de gestation dans le lait de vache, l'inconvénient majeur de ce test réside dans la non existence d'une zone douteuse: un prélèvement réellement dans la zone douteuse va recevoir par RPT une réponse définitive positive ou négative.

Le test CITE est également très commode d'emploi. Il ne demande aucun matériel, pas même un évier, tout juste une montre. Il est un peu plus long et ne permet de traiter que 1 ou 2 prélèvements à la fois, en décalant les dosages.

Les réponses CITE basses ( $\leq 1$ ) et hautes ( $\geq 4$ ), même si elles ne représentent pas exactement le dosage en progestérone du prélèvement permettent de bien distinguer les prélèvements bas des prélèvements hauts.

Seule la réponse CITE 1 à 4 ne donne pas de résultats fiables. Dans la mesure où ces réponses non fiables ont concerné essentiellement les prélèvements de 2 juments, n'y aurait-il pas là un effet du plasma ?

Au vu de ces 2 essais, nous proposons l'interprétation suivante des résultats obtenus avec CITE:

si CITE $\leq 1$ ou =1	:	taux bas de progestérone
si CITE =4 ou $>4$	:	taux élevé de progestérone
si CITE 1 à 4	:	taux non interprétable

Dans ce dernier cas, il faut refaire un prélèvement 2 jours plus tard, ce qui permettra à la jument si elle est vraiment douteuse de passer nettement en phase lutéale ou en phase oestrale.

## CONCLUSION

L'annexe 1 précise la liste des laboratoires réalisant des dosages RIA de la progestérone et des oestrogènes en France.

Le taux de progestérone plasmatique utilisé seul avec ou sans les indications de la barre permet une surveillance simple de l'état des juments. Associé aux techniques de palpation et d'échographie, il peut permettre une observation précise.

Grâce aux dosages rapides, le taux de progestérone devrait être de plus en plus utilisé. Le prix des différents dosages proposés doit être compatible avec une utilisation zootechnique.

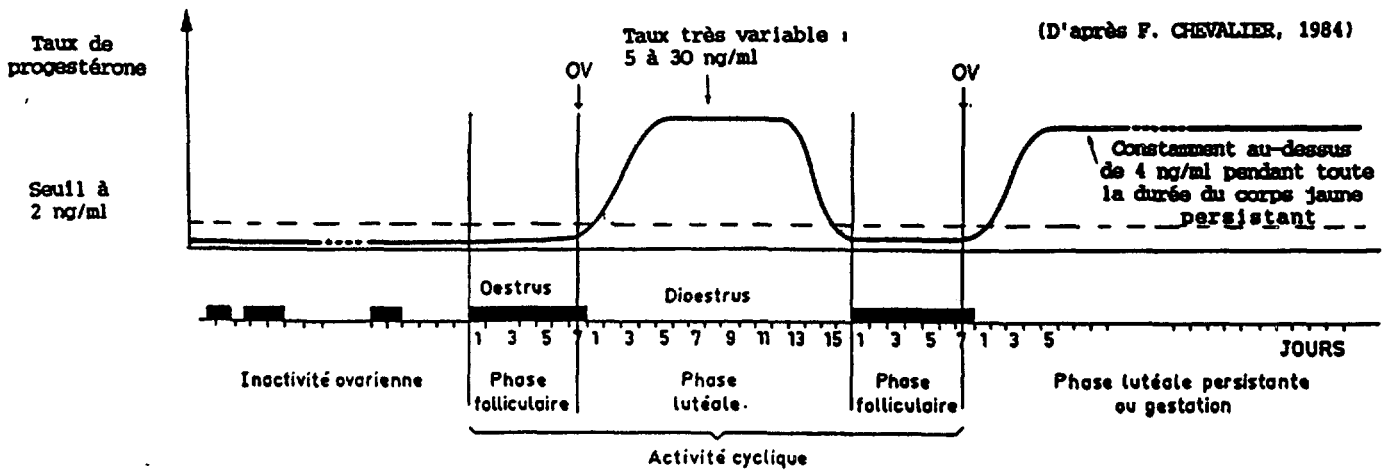
## REMERCIEMENTS

à D. ANDRE, M. A. DRIANCOURT et E. PALMER, INRA Nouzilly pour leurs conseils,

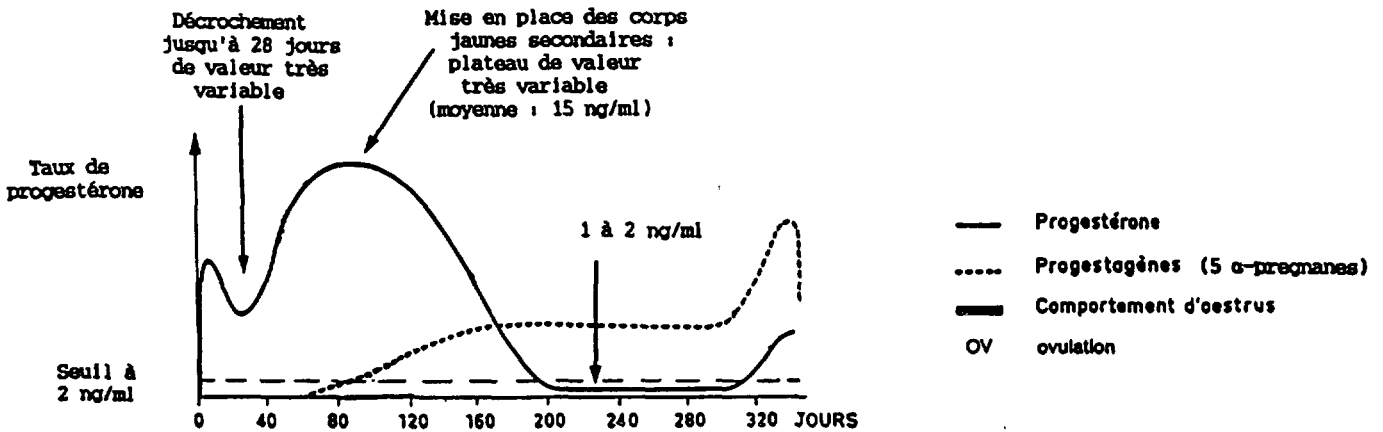
à E. SELLAL (Rhône-Mérieux) pour la fourniture des tests RPT et CITE et le financement de la majorité des dosages RIA,

aux Haras Nationaux d'Angers, Compiègne, Hennebont, Lamballe, Montier en Der, Pompadour, Pau, Rosières, Tarbes, au Domaine expérimental de Chamberet et au CFPMR du Haras du Pin pour la réalisation des prélèvements et des tests.

Figure I : Représentation schématique du taux de la progestérone selon les états physiologiques de la jument



Représentation schématique du taux de la progestérone durant la gestation



**TABEAU 1 : UTILISATIONS DU DOSAGE RAPIDE DE LA PROGESTERONE CHEZ LA JUMENT (SAUF DIAGNOSTIC DE GESTATION)**  
**USE OF AN IMMEDIATE PROGESTERONE ASSAY IN MARE (EXCEPT PREGNANCY DIAGNOSIS)**

Comportement à la barre (teasing) :  
 ■ : positif, ... : douteux, == : négatif.

Passage à la barre Problèmes à résoudre Teasing	Résultats des dosages (+/-) et intervalle en jours entre prise de sang Assay results and time of blood sampling	Interprétation physiologique Conclusion
<u>Pas de passage à la barre</u>	- (7) - (7) - (7) +	sortie d'inactivité ovarienne = diagnostic de cyclicité
<u>La jument ne vient pas en chaleur</u>	- (7) - (7) -	inactivité ovarienne
	- (7) + (7) + (7) -	chaleur silencieuse
	+ (7) + (7) + (avant de traiter avec des prostaglandines s'assurer que la jument n'a pu être saillie)	corps jaune persistant
<u>La jument vient en chaleur</u>  diagnostic de cyclicité	■ (5 j. après - fin des chaleurs)	inactivité ovarienne
	■ (5 j. après + fin des chaleurs)	activité ovarienne
comportement douteux à la barre	- (5 j. après - (7) - fin de cet état)	inactivité ovarienne
	- (5 j. après + fin de cet état)	oestrus lors du comportement douteux
	+	présence d'un corps jaune, pas en oestrus
présence de gros follicules et barre négative	- (7) + ==	chaleur silencieuse
	+ (7) + (7) + ==	corps jaune persistant
	+ (7) + (7) - ==	follicule de milieu de cycle (sans incidence sur la cyclicité)
suivi d'ovulation	- (1) - (1) ? (1) +	l'ovulation s'est produite 24 à 72h avant le premier dosage +
	- (2) - (2) ? (2) +	l'ovulation s'est produite 24 à 96h avant le premier dosage +



**TABLEAUX 2a ET 2b : COMPARAISON ENTRE LES REPONSES EN RIA RAPIDE ET LES REPONSES OBTENUES AVEC RPT DANS 2 ESSAIS**  
**COMPARISON OF QUALITATIVE SCORES OBTAINED BY FAST RIA METHOD TO QUALITATIVE SCORES OBTAINED BY RPT IN TWO TRIALS**

**2a: ESSAI LABORATOIRE**  
*Laboratory trial*

		RIA		
		-	?	+
RPT	-	78	4	3
	+	1	1	36
		79	5	39

n = 123

**2b: ESSAI TERRAIN**  
*Field trial*

		RIA		
		-	?	+
RPT	-	91	1	9
	+	2	0	28
		93	1	37

n = 131

**TABLEAU 3 : COMPARAISON ENTRE LES CONCENTRATIONS EN RIA QUANTITATIF ET LES REPONSES CITE DANS 2 ESSAIS**  
**COMPARISON OF PROGESTERONE CONCENTRATION (QUANTITATIVE RIA) TO SEMI-QUANTITATIVE SCORES OBTAINED BY CITE IN TWO TRIALS**

		RIA quantitatif (ng/ml) Quantitative RIA								
		Essai laboratoire Laboratory trial			Essai terrain Field trial			Total Total		
		≤1	1à4	≥4	≤1	1à4	≥4	≤1	1à4	≥4
CITE scores	≤1	22	2	0	26	3	0	48	5	0
	1à4	0	2	3	2	2	3	2	4	6
	≥4	0	1	24	1	5	22	1	6	46
Total		22	5	27	29	10	25	51	15	52

n = 54                      n = 64                      n = 118

## ANNEXE 1

### LABORATOIRES PRATIQUANT DES DOSAGES RIA DE LA PROGESTERONE ET DES OESTROGENES EN FRANCE

NOM ET ADRESSE DU LABORATOIRE	DOSAGES REALISES
Laboratoire des Dosages Hormonaux Physiologie de la Reproduction INRA Nouzilly 37380 MONNAIE tel : 47 42 77 87	Progesterone (rapide) Progesterone (quantitatif) Oestrogènes (rapide) Oestrogènes (quantitatif)
Laboratoire de Biochimie Ecole Nationale Vétérinaire Case postale 3013, 44 087 NANTES Cedex 03 tel : 40 30 08 40	Progesterone (quantitatif) Oestrogènes (quantitatif)
UNCEIA Laboratoire de dosage 13 rue Jouët, 94700 MAISONS ALFORT tel : (1) 43 76 23 13	Progesterone (quantitatif) Oestrogènes (quantitatif)
Laboratoire de Biochimie Esp. de la Paix 14 032 CAEN cedex	pas de dosage de routine seulement si possibilité de collecte de données

### LABORATOIRES PRATIQUANT LE DOSAGE DES OESTROGENES DANS LES URINES

#### NOM ET ADRESSE DES LABORATOIRES

Pathologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire,  
7 avenue du Général de Gaulle, 94 704 MAISONS ALFORT cedex,  
tel : (1) 43 96 71 00

Pathologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire,  
NANTES. Voir adresse ci-dessus.

Pathologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire,  
Route de St Bel 69 280 MARCY L'ETOILE  
tel : 78 87 00 84

Pathologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire  
23 chemin des Capelles, 31 076 TOULOUSE cedex,  
tel : 61 49 11 40

Certains Laboratoires Départementaux des Services Vétérinaires, se  
renseigner dans son département.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Allen, W.R. (1984) Is your progesterone therapy really necessary? *Equine vet. J.* 16, 496-498.
- 2 - Allen, W.R., Kydd, J.H., Boyle, M.S. and Antczak, D.F. (1987) Extraspecific donkey-in-horse pregnancy as a model of early fetal death. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 35, 197-209.
- 3 - Bosu, W.T.K., Turner, L. and Franks, T. (1984) Estrone sulfate and progesterone concentrations in the peripheral blood of pregnant mares: Clinical implications. In: *Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. and AI, Urbana, 2, 78.*
- 4 - Chevalier, F. (1984) Diagnostic de l'état physiologique de la jument. in : *Le Cheval.* Ed. R. Jarrige and W. Martin-Rosset, Paris, 67-75.
- 5 - Eckersall, P.D. and Harvey, M.J.A. (1987) The use of a bovine plasma progesterone ELISA kit to measure progesterone in equine, ovine and canine plasmas. *Vet. Rec.* 120, 5-8.
- 6 - Forde, D., Keenan, L., Wade, J., O'Connor, M. and Roche J.F. (1987) Reproductive wastage in the mare and its relationship to progesterone in early pregnancy. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 35, 493-495.
- 7 - Ginther, O.J. (1979) Reproductive biology of the mare: Basic and Applied aspects. Ed. Mc Naughton and Gun, Inc., Ann Arbor, Michigan.
- 8 - Ginther, O.J. (1985) Embryonic loss in mares: incidence, time of occurrence and hormonal involvement. *Theriogenology*, 23, 77-89.
- 9 - Ginther, O.J., Garcia, M.C., Bergfelt, D.R., Leith, G.S. and Scraba, S.T. (1985) Embryonic loss in mares: pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology*, 24, 409-417.
- 10 - Günzel, A-R. and Merkt, H. (1979) Oestrus and fertility following progestagen treatment of mares showing clinical evidence of early pregnancy failure. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, 27, 453-455.
- 11 - Hinrichs, K., Sertich, P.L., Solorzano, N.M. and Caldwell, L.A. (1988) Use of an immediate, qualitative progesterone assay for determination of day of ovulation in an equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 29, (1123-1130).
- 12 - Losert, J., Landmann, D., Küster, J. and Holtz, W. (1986) Vergleich zweier Enzymimmunoassays zur Progesteronbestimmung in Milch und Blutserum von Pferd und Rind und im Blutserum vom Schwein. *Zuchthyg.* 21, 241-246.

- 13 - Palmer, E. (1976) Utilisation du dosage de la progestérone chez la jument. *Pratique Vet. Eq.* 8, 59-61.
- 14 - Palmer, E., Thimonier, J. and Lemon, M. (1974) Early pregnancy diagnosis in the mare by estimation of the level of progesterone in the peripheral blood. *Livestock prod. sci.*, 1, 197-206.
- 15 - Saumande, J., Tamboura, D. and Chupin, D. (1985) Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and of embryos collected. *Theriogenology*, 23, 719-731.
- 16 - Squires, E.L., Nett, T.M., Wiepzig, M.S. and Mock, E.J. (1985) Use of an enzyme assay for determination of progesterone in broodmares. In: *Proc. 31st Am. Ass. Eq. Pract. Toronto.* 565-570.
- 17 - Shideler, R.K., Squires, E.L., Voss, J.L., Eikenberry, D.J. and Pickett, B.W. (1982) Progestagen therapy of ovariectomized pregnant mares. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 459-464.
- 18 - Stabenfeldt, G.H. and Hughes, J.P. (1987) Clinical aspects of reproductive endocrinology in the horse. *Comp. Cont. Ed.*, 9, 678-684.
- 19 - Terqui, M. and Thimonier, J. (1974) Nouvelle méthode radio-immunologique rapide pour l'estimation du niveau de progestérone plasmatique. Application pour le diagnostic précoce de la gestation chez la brebis et la chèvre. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 279, 1109-1112.
- 20 - Theissen, B. (1986) [Testing a new enzyme immunoassay in a microtitration method for determining progesterone in blood and milk of mares]. In: *Inaugural dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, German Federal Republic., Animal Breeding Abstracts*, 1987, 55, (12), 922.
- 21 - Vidament, M. (1988) Chez la jument, un diagnostic de gestation tardif. *La France Agricole* (22 587), 17-18.