

Original Article

Détermination Immunoenzymatique des Valeurs Fréquentes des Hormones de Reproduction chez la Femme Congolaise

Etienne Mokondjimobe^{1,2}, Olivier Pambou^{1,2}, Gildas N. Beatsengue², Reine Eboka-Loumingou², Benjamin Longo-mbenza³, Henri J. Parra^{1,3}, Edouard Ngou-milama⁴

¹Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien NGouabi, Brazzaville, Congo. ²Laboratoire National de Santé Publique, Brazzaville, Congo. ³Research Champion, Faculty of Health Sciences, Walter Sisulu University, Mthatha, South Africa. ⁴Faculté des Sciences de la Santé, Université Omar Bongo Ondimba, Libreville, Gabon.

Corresponding Author: Etienne Mokondjimobe, Ph.D; (c): +242-055269958; E-mail: mmobet@yahoo.fr

J. Innov. Res. Health Sc. Biotech. 2015; 1(1): 31 – 35.

doi: 10.18644/jiresh-biotech.0000005

ABSTRACT

Background: This non-randomised prospective study was aimed to determine, according to the phase of the menstrual cycle, the frequent values of FSH (follicle stimulating hormone), LH (luteinizing hormone), progesterone and estradiol in Black Bantu women in Brazzaville, Congo. **Methods:** From May to October 2009, 50 blood specimen from voluntary women, in the germinal phase, was analysed by an immunoenzymatic method on an automated AxSYM® type (ABBOTT laboratories, Germany), at the National Laboratory of Public Health of Brazzaville, Congo. Women of more than 30 years old have been excluded from the study; the mean age was 22 years ranging from 18 to 30 years. Results obtained from the women in the ovulatory phase (n = 4) have not been communicated, because of the small sample size. **Results:** A great dispersion of hormonal concentration values were shown, depending on the stage of the cycle. The scales of observed values were different from those proposed by the ABBOTT laboratories. However, the obtained averages were within the interval ranges of reference values issued by the manufacturer. **Conclusion:** These results testify the necessity, for every biomedical analysis laboratory, to arrange its own values of reference, to avoid difficulties of interpreting hormonal results during the diagnostic process of infertility.

Keywords: Immunoenzymology; hormones; frequent values; markers of fertility; Black Bantu Congolese women.

RÉSUMÉ

Contexte : Cette étude prospective non randomisée avait pour objectif la détermination, en fonction de la phase du cycle menstruel, des valeurs fréquentes de la FSH (hormone folliculostimulante), de la LH (hormone lutéinisante), de la progestérone et de l'estradiol chez la femme noire Bantu à Brazzaville, Congo. **Méthodologie :** De mai à octobre 2009, 50 sérums de femmes volontaires, en période d'activité germinale, ont été analysés, par une méthode immunoenzymatique sur automate de type AxSYM® (laboratoires ABBOTT, Allemagne), au Laboratoire national de santé publique de Brazzaville, Congo. Les femmes de plus de 30 ans ont été exclues de l'étude ; l'âge moyen était de 22 ans avec des extrêmes de 18 et 30 ans. Les résultats des femmes en phase ovulatoire (n = 4) n'ont pas été communiqués à cause de la faible taille de l'échantillon. **Résultats :** On a pu observer une grande dispersion des concentrations hormonales en fonction de la phase du cycle. Les plages des valeurs observées différaient de celles proposées par les laboratoires ABBOTT. Cependant, les moyennes obtenues étaient dans l'intervalle de référence du fabricant. **Conclusion :** Ces résultats témoignent de la nécessité, pour chaque laboratoire d'analyses biomédicales, de disposer de ses propres valeurs de référence, pour éviter les difficultés d'interprétation au cours de l'exploitation hormonale du diagnostic d'infertilité.

Mots clés : Immuno-enzymologie ; hormones ; valeurs fréquentes ; marqueurs de fertilité ; femme noire Bantu congolaise.

Submitted 12/01/2015, accepted 21/09/2015 <http://jiresh-biotech.edmgr.com>

INTRODUCTION

La connaissance des variations biologiques et des facteurs qui affectent les concentrations des constituants de l'organisme humain sont indispensables pour la production des valeurs fréquentes et des valeurs de référence (1). L'exploration de l'infertilité est la base de toute prise en charge du couple infertile. La stérilité, vécue dans la plupart des pays africains comme une malédiction, est parfois source de drames familiaux importants (2). En Afrique, le fardeau de l'infertilité représente 11 à 20% des causes de stérilité (3). À Brazzaville, 50% des femmes infertiles ne consultent pas un médecin en première intention (4), d'où les retards diagnostiques et de prise en charge chez des patientes ayant généralement atteint ou dépassé l'âge de 38 ans. Le bilan hormonal est une composante essentielle dans l'exploration de la femme infertile en période d'activité génitale, aux côtés de l'examen clinique gynécologique, l'imagerie et l'endoscopie génitale. En effet, l'exploration hormonale présente non seulement un intérêt diagnostique pour déterminer l'origine ovarienne ou hypothalamo-hypophysaire de l'infertilité, mais aussi un intérêt prédictif de la réserve ovarienne et de la surveillance lors de la stimulation en mono folliculaire ou en AMP (Assistance médicale assistée). C'est pour ces raisons que nous avons réalisé cette étude pour chercher à déterminer, en fonction de la phase du cycle menstruel, les valeurs fréquentes de l'évaluation hormonale de l'œstradiol, de la progestérone, de l'hormone folliculostimulante (FSH) et de l'hormone lutéinisante (LH) chez la femme noire Bantu, à Brazzaville, Congo.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude prospective non randomisée qui s'est déroulée de mai à octobre 2009 au Laboratoire national de santé publique de Brazzaville. Le protocole de ce travail a été accepté par le comité d'éthique de la Faculté des sciences de la santé à l'Université Marien Ngouabi (Nr.00051/09), Brazzaville. Le consentement éclairé, libre et signé a été obtenu des participants. Ce travail a été réalisé dans le respect strict des recommandations de la Déclaration d'Helsinki. La population étudiée est homogène, de sexe féminin et composée de 50 étudiantes volontaires de la Faculté des sciences de la santé de Brazzaville. Les critères d'inclusion étaient les suivants : âge compris entre 18 et 30 ans, nullipare, cycle menstruel normal de 28 jours, pas d'antécédents gynécologiques pathologiques. Étaient exclus de l'étude, les sujets obèses, ceux ayant une prise médicamenteuse avérée ou consommant de l'alcool ou du tabac. Une fiche d'enquête a été établie pour chaque volontaire à l'étude. Trois prélèvements sanguins consécutifs ont été effectués le matin à jeun au repos, dans un tube sec, par ponction veineuse franche au pli du coude. Les échantillons sont

centrifugés à 3000 tours / minutes pendant 5 minutes. Les sérums obtenus sont répartis en aliquotes dans des cryotubes de 1.5ml, préalablement étiquetés puis congelés à une température de - 20°C pendant 1 mois au maximum. La décongélation des tubes n'a été effectuée que lors du dosage des hormones. Les dosages hormonaux ont été effectués par une technique immuno-enzymatique microparticulaire avec des réactifs commercialisés par les laboratoires ABBOTT (Allemagne) pour l'automate d'immunoanalyse AxSYM®. L'échantillon et tous les réactifs ont été prélevés par l'aiguille d'échantillonnage dans les différents puits d'une cartouche de réaction. Celle-ci était immédiatement transférée dans l'unité de traitement. Les microparticules étaient recouvertes d'anticorps formant un complexe anticorps-antigène. Une partie du mélange réactionnel qui contient le complexe anticorps-antigène lié aux microparticules était transférée sur la matrice. Les microparticules se lient irréversiblement avec le tampon à la matrice de verre. La matrice était lavée avec le tampon de lavage afin d'éliminer le matériel non lié. Le conjugué d'anticorps anti-hormone-phosphatase alcaline, était distribué sur la matrice et se liait au complexe anticorps-antigène. La matrice était de nouveau lavée afin d'éliminer le matériel non lié. Le substrat, phosphate de méthyl-4-ombelliféryl, était ajouté sur la matrice et le produit fluorescent était mesuré par le système immuno-enzymatique. Analyses statistiques : Les moyennes avec écarts-types des valeurs moyennes des concentrations des hormones ont été comparées selon les phases du cycle menstruel en appliquant l'analyse de variance. Pour des comparaisons multiples, le test Bonferroni Post-Hoc a été utilisé dans les paires des phases. La valeur de la probabilité, $p < 0.05$, était considérée différente pour la signification statistique. Le Logiciel SPSS version 19 pour Windows a été utilisé dans ces analyses statistiques.

RÉSULTATS

Les valeurs moyennes de la FSH, de la LH, de la progestérone et de l'œstradiol en unités internationales et en fonction des phases folliculaire et lutéale sont présentées dans le [Tableau 1](#) : la différence étant très significative ($P < 0.0001$). Mais les valeurs des hormones lors de la phase ovulatoire étaient similaires à celles de la phase folliculaire ($P > 0.05$, Test Bonferroni ; résultats non présentés). La distribution des plages des valeurs obtenues pour les mêmes hormones est présentée en comparaison avec celles proposées par la société ABBOTT pour l'AxSYM® ([Tableau 2](#)).

Tableau 1. Répartition des concentrations des paramètres hormonaux en fonction des phases du cycle

Période du cycle	FSH (mUI/ml)	LH (mUI/ml)	Progestérone (ng/ml)	Œstradiol (pg/ml)
Phase folliculaire (n=22)	5.36 ± 1.36	6.48 ± 2.4	0.55 ± 1.4	91.4 ± 64.5
Phase lutéale (n=24)	4.5 ± 3.1	9.7 ± 13.0	7.3 ± 6.4	125.3 ± 106

Tableau 2. Distribution des valeurs hormonales obtenues en comparaison avec celles proposées par les laboratoires ABBOTT pour l'AxSYM®.

Période du cycle	FSH (mUI/ml)	LH (mUI/ml)	Progestérone (ng/ml)	Estradiol (pg/ml)
Phase folliculaire (n=22)	2.50 à 8.24 3.09 à 7.90 (*)	2.57 à 11.09 1 à 18 (*)	0 à 18.09 0.27 à 2.61 (*)	17 à 250 39 à 189 (*)
Phase lutéale (n=24)	0.89 à 15.22 1.38 à 5.52 (*)	0.95 à 57.25 0.40 à 20 (*)	0.04 à 23.39 3.28 à 38.63 (*)	18 à 453 48 à 309 (*)

(*) valeurs proposées par les laboratoires ABBOTT pour l'automate AxSYM®.

DISCUSSION

Cinquante sérums provenant d'étudiantes volontaires ayant un cycle menstruel normal ont été analysés. Ces jeunes femmes ont été réparties en groupes d'âge et en fonction de la phase du cycle, à l'interrogatoire, en partant de la date des dernières règles, selon la méthodologie utilisée par CROWLEY et coll. (5). Soixante-huit pourcent de notre échantillonnage sont âgés de 18 à 23 ans. Les prélèvements ont été effectués dans les 3 phases du cycle, à savoir, folliculaire, ovulatoire et lutéale. Vu la taille de l'échantillonnage et la complexité de la détermination exacte de la phase ovulatoire qui nécessite des dosages répétés de LH au cours du cycle afin de déterminer son pic qui est indicateur de la phase ovulatoire, nous nous sommes abstenus de présenter cette phase. Au cours de l'étude, nous avons observé de grandes dispersions des valeurs des hormones au cours d'une même phase du cycle menstruel. Ces observations ont été également rapportées par les études de HALL (6) qui notent des variations importantes des concentrations d'œstradiol, de progestérone, de FSH et de LH au cours du cycle. Les valeurs de FSH et LH observées à la phase folliculaire présentent moins de dispersion comparativement à celles observées à la phase lutéale ; cette observation est en

accord avec la théorie de pulsativité des hormones gonadotropes. La FSH et la LH varient dans un même sens au cours du cycle menstruel, bien que la pulsativité de la FSH soit moins prononcée que celle de la LH (7). En ce qui concerne, l'œstradiol et la progestérone quelque soient les phases du cycle, ces hormones présentent des grandes dispersions qui peuvent s'expliquer par le fait que les femmes se trouvaient à des périodes différentes dans une même phase du cycle. La variabilité d'un résultat en endocrinologie est multifactorielle ; cette variation peut être due au rythme circadien, au stress et aux mécanismes de la sécrétion pulsatile (8). Cette grande dispersion des valeurs témoigne de la difficulté d'interpréter un dosage hormonal sérique. C'est ainsi que plusieurs auteurs (1, 9, 10) recommandent à chaque laboratoire d'hormonologie de disposer de ses propres valeurs de référence. Notre étude, bien que préliminaire et sur un échantillon de 50 femmes, ne nous permet pas de tirer des conclusions définitives, mais permet d'établir certaines corrélations avec les seuils proposés par les laboratoires ABBOTT. En effet, 50% des valeurs obtenues pour la FSH, à la phase lutéale, se trouvent dans les limites proposées par ABBOTT ; 41,7% des résultats sont au-delà de la valeur maximale contre 8,3% (statistiquement non significatif) en deçà de la valeur minimale proposée. Par ailleurs, de nombreux

auteurs prévoient des différences de valeurs d'une même hormone de reproduction dans une phase du cycle allant jusqu'à 10% (11). Pour l'œstradiol, à la phase folliculaire, 82% des valeurs se trouvaient dans les limites proposées par ABBOTT, 14% étaient inférieures à la valeur minimale et 4% étaient supérieures à la valeur maximale. À la phase lutéale, 54% des valeurs étaient dans les limites de celles proposées par ABBOTT, contre 21% de ces valeurs qui étaient inférieures à la valeur proposée par ABBOTT. Quant à la progestérone, 23% des valeurs obtenues se trouvaient dans les limites proposées par ABBOTT durant la phase folliculaire, contre 68% des valeurs qui sont inférieures à la valeur minimale et 9% des valeurs supérieures à la valeur maximale obtenue. Ce pourcentage élevé des valeurs basses de la progestérone sont en accord avec les données de la littérature (11-13). Pendant la phase lutéale, 54% de ces valeurs étaient dans les limites de celles proposées par ABBOTT, contre 46% qui étaient inférieures à la valeur minimale. Ces observations montrent une discordance importante entre les valeurs maximales proposées par les laboratoires ABBOTT et les valeurs attendues chez la femme congolaise en période d'activité génitale. Prenons l'exemple de la valeur d'œstradiol en fin de phase folliculaire, qui est de 189 pg/ml chez ABBOTT ; cette valeur est de 250 pg/ml chez la Congolaise dans l'étude présente. À la phase lutéale, la progestéronémie varierait de 3,28 à 38,63 ng/ml chez ABBOTT versus 0,04 à 23,39 chez les femmes volontaires de Brazzaville comme l'indique le tableau II. Dans notre étude, nous avons également constaté l'existence des valeurs qui sont hors limites proposées par ABBOTT avec des pourcentages supérieurs à 5% pour la FSH, la LH et l'œstradiol ou très élevés pour la progestérone. Dans leur étude, TAIEB et BENATTAR avaient fait la même remarque sur les valeurs basses de la progestérone (13). Ces discordances, entre les plages de valeurs proposées par les fabricants et les concentrations hormonales de la population cible, pourraient, en clinique, lors des stimulations folliculaires simples ou en cas de stimulations multi folliculaires dans le cadre de la FIV (fécondation in vitro), avoir des conséquences sur la conduite de la stimulation. Les valeurs qui sont en dehors des limites proposées par ABBOTT ne représentent pas des valeurs pathologiques. Ces observations nous emmènent à prendre en compte les recommandations et les conclusions émises par de nombreux auteurs (6, 14) et certains fabricants d'automates d'immunochimie concernant l'établissement des propres valeurs seuils pour chaque laboratoire, par rapport à sa population d'étude et à sa technique.

CONCLUSION

Au cours de cette étude préliminaire des valeurs fréquentes des hormones de la reproduction chez 50 femmes congolaises à Brazzaville, nous avons montré que les concentrations d'œstradiol, de progestérone, de FSH et

de LH présentaient une grande dispersion au cours d'une même phase chez nos sujets apparemment sains. Nos valeurs ont présenté quelques différences avec les valeurs proposées par le fabricant de l'appareil utilisé pour le dosage; ces valeurs ne sont pas pathologiques, mais pourraient poser des problèmes d'interprétation. Grâce à cet automate, AxSYM®, doué d'énormes capacités, des études complémentaires avec un échantillon plus grand s'avèrent nécessaires avec, notamment, des dosages au troisième jour du cycle menstruel en incluant également la phase ovulatoire, capitale pour la fécondation. Ces études pourront apporter une pertinence supplémentaire pour valider nos résultats et assurer une bonne corrélation des valeurs seuils proposées par les laboratoires ABBOTT pour nos populations en quête de maternité.

Conflit d'intérêts:

Les auteurs ne déclarent aucune sorte de conflit d'intérêts.

RÉFÉRENCES

1. Ngou-Milama E, Djeki J, Akpona S, Dufillot D, Lebreton Devonne T, Mouray H. [Selection criteria for the establishment of reference values in tropical zones. Application to specific proteins: C-reactive protein, haptoglobin, transferrin in gabonese children]. Bulletin de la Société de pathologie exotique. 1997;90(1):33-6. PubMed PMID: 9264748.
2. Giwa-Osagie OF. ART in developing countries with particular reference to sub-saharan in Africa. Currents practices and controversies in assisted reproduction. World Health Organisation 2000.
3. Perrin XR. Problèmes posés par l'infertilité en Afrique au sud du Sahara : quelles solutions face à la mondialisation ? . 1ères Journées Nationales de la Société Congolaise de Biologie et Médecine de la Reproduction Prise en charge de l'infertilité du couple. 23 - 24 octobre 2008.
4. Pambou OS, F. Mokondjimobé, E. Lolo, F. Parra, H. J. . Parcours de la femme dite « stérile » à Brazzaville. 1ères Journées Nationales de la Société Congolaise de Biologie et Médecine de la Reproduction Prise en charge de l'infertilité du couple Etat des lieux Brazzaville. 23 - 24 octobre 2008. .
5. Gruson A. Descriptif standardisé des analyseurs de biologie : automate d'immunoanalyse. Ann Bio. 1998.
6. Hall J. Infertilité et contrôle de fertilité. Flammarion Médecine-sciences. 2002;16:279.
7. Catt KP, J. . Gonadotrophic hormones on adenophysis. Reproductive Endocrinology. 1978:34-62.
8. Gaw AM, J. Murphy. Cowan, A. R. O'Reilly D. Biochimie Clinique. . 2004.
9. Siest G, Henry J, Schiell F. Interprétation des examens de laboratoire. Valeurs de références biologiques. 1981.
10. NGou-Milama E, Liamidi A, Makandja R. Valeurs de référence du cholestérol total, des triglycérides, de l'apolipoprotéine A-I, de l'apolipoprotéine B et de la Lp(a) dans la population gabonaise Etude sur 1.020 sujets. 1997;6:60-1.

11. Durant G, Beaudaux J. Biochimie médicale - Marqueurs actuels et perspectives. Médicales internationales, 436 In Endocrinology. 2008;23.
12. Abraham G, Odell W, Swerdlof R, Hopper K. Simultaneous radioimmunoassay of plasma FSH, LH, progesterone, 17-hydroxyprogesterone and Estradiol-17 beta during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1972;34:312-8.
13. Taieb J, Bennatar C, Coll. Stabilité des dosages d'œstradiol, progestérone, LH et FSH dans le sang total conservé trois jours à température ambiante. Ann Biol Clin. 2001;59:643-6.
14. Aedo A, Numez L, Landgren BM, Cekan SZ, Diczfalusy E. Studies on the pattern of circulating steroids in the normal menstrual cycle. Circadian variation in the peri-ovulatory period. Acta Endocrinol Copenh. 1980;90:89-98.