

c2665
Subst. Krankengeschichte
Diagnostik
Arztbibliothek

Zentralblatt für Gynäkologie

36. Jahrgang

1964 Heft 46

Inhalt

Originalmitteilungen:

- H. Wilken** (Rostock), Ergebnisse eines immunologischen Schwangerschaftstestes mit Buna-Latex. (Mit 1 Abbildung.) S. 1609.
- K. Richter** (Bruck), Die schmerzhaft Fröhschwangerschaft. S. 1614.
- J. Erneszt** (Budapest), Das Problem der Schwangerschaft und Entbindung von Herzkranken in unseren Tagen. S. 1617.
- Z. Horky** (Karlsburg), Beitrag zur Funktionsbedeutung der Hofbauer-Zellen. (Mit 3 Abbildungen.) S. 1621.
- S. Horská** und **B. Vedral** (Prag), Choriongonadotropin in der Schwangerschaft bei Diabetes mellitus. (Mit 3 Abbildungen.) S. 1626.
- F. Dittmar** und **H. Mehnert** (München), Zur Erkennung latenter diabetischer Zustände bei Wöchnerinnen mit Hilfe des Tolbutamid-Tests. (Mit 1 Abbildung.) S. 1629.
- D. Aravatinos** und **S. Chatzoudis** (Athen), Blutverlustmessungen nach „Syntometrin“-Verabreichung. S. 1634.

Berichte:

Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie in Berlin. Sitzung am 28. 2. 1964. S. 1637.

Referate:

Gravidität. S. 1639.

Aus der Universitäts-Frauenklinik Rostock
(Direktor: Prof. Dr. H. K y a n k)

Ergebnisse eines immunologischen Schwangerschaftstestes mit Buna-Latex¹

Von **H. Wilken**

Mit 1 Abbildung

Die Einführung immunologischer Testverfahren zur Frühdiagnose der Schwangerschaft durch Wide und Gemzell sowie McKean im Jahre 1960 hat sich als Fortschritt erwiesen. Die Vorteile dieser Methoden sind einmal ihre große Empfindlichkeit, zum anderen die technisch einfache und schnelle Durchführung sowie die Unabhängigkeit von Versuchstieren. Das Prinzip der immunologischen Schwangerschaftsteste beruht bekanntlich auf dem Antigencharakter des Choriongonadotropin (HCG), der bereits 1937 bis 1942 durch Zondek und Sulman gesichert werden konnte. Durch Immunisierung von Kaninchen mit HCG läßt sich ein Immuneserum mit Antikörpern gegen HCG gewinnen. Bringt man dieses anti-HCG-Serum

¹ Nach einem Vortrag vor der Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie in Berlin am 14. 2. 1964.

mit einer Lösung von freiem HCG zusammen, so erfolgt eine Antigen-Antikörper-Reaktion, die jedoch unsichtbar ist. Durch Bindung des als Antigen fungierenden HCG an bestimmte Trägersubstanzen läßt sich die Reaktion sichtbar machen. Der eigentliche Schwangerschaftstest besteht nun darin, daß man das anti-HCG-Serum vor der Reaktion mit dem Patientenurin inkubiert. Ist die Patientin gravide, so enthält der Urin freies HCG. Dieses bindet sich an die HCG-Antikörper und neutralisiert sie, so daß die nachfolgende Reaktion negativ wird. Enthält der Urin dagegen kein HCG, so bleiben die Antikörper unberührt und bewirken beim Zusammenbringen mit den HCG-beladenen Testpartikeln eine Agglutination. Der Nachweis von HCG und die Schwangerschaftsdiagnose erfolgt also durch eine Agglutinationshemmung.

Die Industrie hat inzwischen auf diesem Prinzip beruhende Testbestecke herausgebracht. Es handelt sich um den „Pregnosticon-Test“ der Firma Organon, bei dem als Testpartikel besonders präparierte Schafserythrozyten verwendet werden. Beim „Ortho-Schwangerschaftstest“ der Ortho-Laboratories dienen Latex-Teilchen als Trägersubstanz.

Der Pregnosticon-Test ist hochempfindlich und gestattet den Nachweis von 0,1 bis 0,2 IE HCG (Frank; Lemke und Lauritzen; Richter und Arnold). Das entspricht einer HCG-Ausscheidung von 500 bis 1000 IE pro Liter. Da die HCG-Ausscheidung nach Wide und Gemzell bis zur 3. Schwangerschaftswoche 1000 bis 10 000 IE/l beträgt und in der 8. Woche ein durchschnittliches Maximum von 160 000 IE/l erreicht, ist durch diesen Test schon eine sehr frühe Schwangerschaftsdiagnose möglich. Er wird bereits am 38. bis 40. Tag nach der letzten Menstruation positiv. Ein gewisser Nachteil des Testes besteht jedoch darin, daß auch bestimmte andere Gonadotropine eine positive Reaktion hervorrufen können. So soll nach Wide und Gemzell zwischen HCG und LH eine Antigenverwandtschaft bestehen, die zu einer Kreuzreaktion führt. Dadurch wird es im Prinzip möglich, durch Agglutinationshemmung zwischen anti-HCG-Serum und HCG-beladenen Erythrozyten auch LH nachzuweisen. Dagegen ermittelten Lemke und Lauritzen Kreuzreaktionen zwischen HCG und FSH. Der Test reagiert jedoch nicht auf LTH, TSH und Adiuiretin. Durch die genannten Tatsachen ist es möglich, daß der Test mit dem Urin älterer Frauen durch dessen Gehalt an HMG (humanes Menopausen-gonadotropin) positiv wird. Diese Fehlerquelle läßt sich jedoch dadurch umgehen, daß man den Urin von Frauen im klimakterischen Alter 1:1 verdünnt.

Über die klinischen Erfahrungen mit dem Pregnosticon-Test liegen bereits zahlreiche Berichte vor. Danach liegt die Treffsicherheit zwischen 95 und 99% (Robyn und Mitarb.; Southam und Mitarb.; Philadelphia und Loewit; vander Molen und Mitarb.; Richter und Arnold; Frank; Keller und Erb; Brosswitz und Lohmeyer). Bei den Fehlergebnissen handelt es sich meistens um falsch-positive Teste, welche durch die hohe Empfindlichkeit und die Gruppenspezifität mit den anderen Gonadotropinen bedingt sind. Falsch-negative Ergebnisse sind beim Pregnosticon-Test ausgesprochen selten.

Der Ortho-Schwangerschaftstest ist weniger empfindlich. Mit ihm lassen sich 15 IE (nach Angaben der Hersteller) und 6 IE (nach Lemke und Lauritzen) erfassen. Richter und Arnold bestimmten eine Empfindlichkeit von 10 000 IE/l. Dementsprechend gibt es häufiger falsch-negative Ergebnisse. Seine Treffsicherheit liegt nach Angaben der Ortho Pharmaceutical Corporation an 1000 Fällen bei 97,3%. Andere Autoren (Böttger; Weegmann; Santoni; Fenner; Henry und Mitarb.; Lemke und Lauritzen) bestimmten eine Fehlerquote von 2 bis 6%. Der Nachteil dieser Methode besteht vor allem in ihrer geringeren Empfindlichkeit und in einer komplizierten Versuchsanordnung.

Eigene Untersuchungen

In der DDR steht bisher kein immunbiologisches Nachweisverfahren für HCG zur Verfügung. Es erschien deshalb von Interesse, eine derartige Methode auf der Grundlage des Prinzips der Agglutinationshemmung zu entwickeln.

Material und Methodik

Aus der Überlegung, daß synthetische Substanzen länger haltbar sind als Erythrozyten, wurde Latex als Trägersubstanz gewählt.¹ Dabei war zunächst zu prüfen, ob Buna-Latex für die Durchführung der indirekten Agglutination überhaupt geeignet ist. Weiterhin war die am besten geeignete Sorte sowie deren Gebrauchsverdünnung zu ermitteln. Am günstigsten erwies sich Buna-Latex NSH in einer Verdünnung mit Boratpuffer von pH 8,2.

Als HCG-Präparat zur Beladung der Latexteilchen diente Gonabion (Arzneimittelwerk Dresden). Bei der Gonabion-Latexverbindung mußte die optimale Gonabionkonzentration festgestellt werden, die gerade ausreicht, um alle Latexteilchen zu beladen, und verhindert, daß freies HCG in Lösung bleibt.

In umfangreichen Vorversuchen wurden diese Bedingungen ermittelt, wobei als Antiserum ein anti-HCG-Serum vom Kaninchen Verwendung fand. Die Gewinnung des Immunserum gegen HCG erfolgte durch Sensibilisierung von Kaninchen mit Gonabion und Freundschem Adjuvans nach einem bestimmten Schema. In weiteren Versuchen wurden dann die Bedingungen für die Agglutinationshemmung durch HCG-haltigen Schwangerenurin und für das Ausbleiben derselben bei Nichtschwangerenurin ermittelt und die Methode auf ein Mindestmaß an zeitlichem Aufwand reduziert.

Der endgültige Test besteht aus folgenden Arbeitsgängen:

1. Filtrieren des Urin
 2. 0,2 ml Urin + 0,2 ml anti-HCG-Serum 37 °C (Wasserbad) 1 Stunde
 3. 0,4 ml Urin-Antiserum-Gemisch + 0,2 ml Gonabion-Latex 37 °C (Wasserbad) 1 Stunde
 4. Zentrifugieren 5000 U/min 3 min
- etwa 2 Stunden

5. Ablesung:

Agglutination (Überstand klar) = negativ (keine Schwangerschaft)
 Agglutinationshemmung (Lösung trübe) = positiv (Schwangerschaft)

Ergebnisse

Die Bewertung erfolgte in positiv, negativ und schwach positiv, wobei das letztere Ergebnis als unsicher angesehen und möglichst mit Morgenurin wiederholt wurde.

Die bisherigen Ergebnisse gehen aus Tabelle I hervor.

Tabelle I. Latexteste bei Nicht- und Frühschwangeren

insgesamt	richtig positiv	richtig negativ	falsch positiv	falsch negativ	Treffsicherheit
282	190	77	3	12	94,7 %
	<u>267</u>		<u>15</u>		

¹ Den Buna-Werken sind wir für die Überlassung von verschiedenen Latex-Sorten zu Dank verpflichtet.

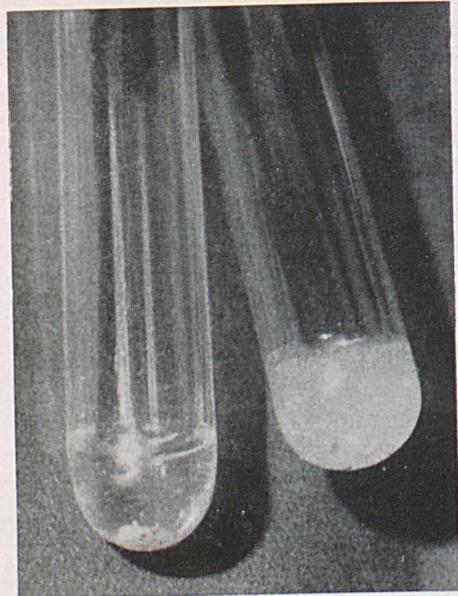


Abb. 1. Immunologischer Schwangerschaftstest mit Buna-Latex (links negativ, rechts positiv)

Es wurden nur Teste von Patientinnen ausgewertet, bei denen der weitere Verlauf, wiederholte Krötenteste oder Abrasio eine sichere Diagnose stellen ließen. 17 Teste wurden nicht in die Bewertung einbezogen, weil keine weiteren Kontrollen erfolgten und die endgültige Diagnose unsicher blieb. Von insgesamt 282 Testen waren 77 richtig negativ und 190 richtig positiv. Bei den positiven Testen handelt es sich ausschließlich um Frauen bis zum 5. Schwangerschaftsmonat. 3mal fand sich ein falsch-positives Ergebnis, und zwar jedesmal bei Patientinnen mit einer Amenorrhoe von 6 Wochen bis 4 Monaten, bei denen sich später klinisch keine Gravidität herausstellte. Möglicherweise handelt es sich um hypergonadotrope Amenorrhoeen, so daß der positive Ausfall durch hohe Werte hypophysärer Gonadotropine bedingt war. 12 Teste bei sicher schwangeren Frauen in der 6. bis 16. Woche waren negativ. Auf die möglichen Ursachen wird in der Besprechung der Ergebnisse noch einzugehen sein.

Die Tabelle II zeigt einen Vergleich zwischen Latex- und Krötentesten.

Tabelle II. Vergleich zwischen Latex- und Krötentesten

ins-gesamt	Über-einstimmung	Frosch-Test		Latex-Test	
		falsch negativ	falsch positiv	falsch negativ	falsch positiv
157	120	23 (Frühgrav. 3) (EU 3) (Abortus 17)	4	8	2
		27		10	

Es handelt sich bei den in Tabelle II ausgewerteten Latex- und Krötentesten nur um solche, die gleichzeitig am selben Tag durchgeführt wurden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß bei den Krötentesten Serum und bei den Latextesten Urin verwendet wird. Auffallend sind die 23 falsch negativen Krötenteste bei positivem Latextest, die auf eine höhere Empfindlichkeit des Latextestes hindeuten. Besonders hervorzuheben sind 3 Fälle von Tubargravidität, bei denen die Latexteste die Gravidität richtig anzeigten, während wiederholte Krötenteste negativ blieben.

Neben den obenerwähnten 282 Testen bei Früh- und Nichtschwangeren wurden 120 Spätgravide untersucht. Zum größten Teil handelt es sich um Urine von Patientinnen, die im Kreißsaal mit Wehen zur Aufnahme kamen. Von den Testen waren 16 negativ, so daß die Treffsicherheit in der Spätgravidität 86,7% beträgt. Das entspricht jedoch dem niedrigen HCG-Spiegel am Ende der Schwangerschaft. Nach Böttger ist auch bei den immunologischen Testen nur von der 6. Woche post menstruationem bis zur 16. Schwangerschaftswoche mit richtigen Ergebnissen zu rechnen.

Mit dem Latex-Schwangerschaftstest wurden außerdem 16 Menopausenurine untersucht. In 9 Fällen ergab sich mit dem Nativurin ein positives oder ein schwach positives Ergebnis. Mit dem 1:1 verdünnten Urin war der Test jedoch in allen Fällen negativ.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Empfindlichkeit des Buna-Latextestes geprüft. Da kein internationaler HCG-Standard zur Verfügung stand, erfolgte die Testung mit Gonabion (AWD). Bei den handelsüblichen HCG-Präparaten ist mit Schwankungen des Wirkstoffgehaltes bis zu 20% zu rechnen, was bei der Auswertung berücksichtigt werden muß. Es wurde eine Empfindlichkeit von 1,2 Gonabion-Einheiten bestimmt. Diese liegt unter der des Orthotestes und setzt für einen positiven Ausfall in 0,2 ml Urin eine HCG-Ausscheidung von mindestens 6000 IE/1 voraus.

Besprechung der Ergebnisse

Der Buna-Latex-Schwangerschaftstest bedeutet gegenüber den biologischen Methoden eine Verbesserung des HCG-Nachweises sowohl im Hinblick auf die Versuchsdauer als auch auf die Empfindlichkeit. Durch die technisch einfache Durchführung eignet er sich auch für kleinere Einrichtungen, die sich eine Versuchstierhaltung nicht erlauben können. Auch gelingt es durch diese Methode, Fälle von Extrateringravidität besser und schneller zu diagnostizieren, was von besonderer klinischer Bedeutung ist. Unbefriedigend ist jedoch die relativ hohe Zahl falsch-negativer Teste. Allerdings stammen diese Ergebnisse zum größten Teil aus den ersten Untersuchungsreihen. Am Beginn der Untersuchungen wurden einige Faktoren noch nicht berücksichtigt, die für den Ausfall der immunologischen Teste eine Rolle spielen können. Es soll nur Urin verwendet werden, dessen spezifisches Gewicht über 1015 liegt und der nicht älter als 12 Stunden ist. Außerdem wurden die meisten Teste nicht mit Morgenurin durchgeführt, dessen HCG-Konzentration erfahrungsgemäß höher liegt. Seitdem diese Fehlerquellen beachtet werden, sind falsch-negative Teste sehr selten geworden. Nachstehend ein Vergleich der Empfindlichkeit bei den verschiedenen Methoden:

Pregnosticon-Test	500 bis 1000 IE/l
Buna-Latex-Test	6000 IE/l
Ortho-Test	10 000 IE/l
Krötentest nach Galli-Mainini	10 000 bis 25 000 IE/l

Danach liegt die Empfindlichkeit des Latextestes noch an günstiger Stelle. Es erscheint jedoch erstrebenswert, eine Methode mit höherer Sensibilität zu entwickeln, oder die Empfindlichkeit dieses Testes durch geeignete Maßnahmen zu steigern.

Zusammenfassung

Es wird über eine Modifikation des immunologischen Schwangerschaftstestes mit Buna-Latex berichtet. Mit dieser Methode können HCG-Mengen von 6000 IE/l im Urin erfaßt werden. Damit liegt ihre Empfindlichkeit erheblich über der des Krötentestes, was auch durch die mitgeteilten klinischen Erfahrungen bestätigt wird.

Schrifttum

- Arnold, M., F. Roth und R. Richter, *Zbl. Gynäk.* **35** (1963) 30. — Böttger, T. J., *Die Medizinische Welt* **1962**, 2761. — Brody, S., und G. Carlström, *Lancet* **9** (1960) 99; *Nature* **189** (1961) 841; *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **13** (1961) 683. — Brosswitz, E., und H. Lohmeyer, *Zbl. Gynäk.* **35** (1963) 1095. — Fenner, O., *Münch. med. Wschr.* **104** (1962) 2216. — Frank, R., *Zbl. Gynäk.* **35** (1963) 1088. — Henry, J. B., und W. A. Little, *J. Amer. Med. Ass.* **182** (1962) 230. — Hohensee, F., *Therap. d. Gegenwart* **1963**, 169. — Kaivola, S., U. Kiistala, und E. Axelson, *Acta Endocrin.* **42** (1963) 395. — Kelle, D. K., J. Remple, J. Bean und J. Webster, *J. Clin. Endocrin.* **22** (1962) 287. — Keller, M., und H. Erb, *Gynaecologia* **155** (1963) 80. — Lemke, J., und C. Lauritzen, *Zbl. Gynäk.* **35** (1963) 1081. — McKean, B. L., *Amer. J. Obstetr.* **80** (1960) 596. — Pasetto, N., P. Donini, G. Montanino, und F. Stuechi, *Minerva ginec.* **14** (1962) 895. — Philadelphia, V., und K. Loewit, *Wien. klin. Wschr.* **74** (1962) 631. — Polderman, J., *Pharmaceut. wbl.* **97** (1962) 529. — Richter, R. H. H., und M. Arnold, *Gynaecologia* **155** (1963) 72. — Robyn, C., J. M. Limbosch, J. Heuse-Henry und P. O. Hubinot, *Bull. Féd. Soc. gynec. obstétr. franç.* **14** (1962) 257. — Santoni, G., und R. Belgeri, *Minerva ginec.* **14** (1962) 1. — Southam, A. L., B. M. Sultzer und H. Cohen, *Amer. J. Obstetr.* **85** (1963) 495. — H. J. van der Molen, H. J. Bakker und P. M. Oudkerk, *Ned. tschr. geneesk.* **106** (1962) 2425. — Weegmann, F., *Die Medizinische Welt* **1963**, 204. — Wide, L., und C. A. Gemzell, *Acta endocr., K'hvn* **35** (1960) 261; **39** (1962) 539. — Wide, L., *Acta endocr., K'hvn* **39** (1962) 1. — Zondek, B., und F. Sulman, *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.* **36** (1937) 708; **37** (1937) 342.

Anschr. d. Verf.: Doz. Dr. med. habil. H. Wilken, Oberarzt der Univ.-Frauenklinik Rostock, Doberaner Str. 142