

Auf die mögliche forensische Bedeutung eines derartigen Ereignisses im Rahmen eines geburtshilflichen Vaterschaftsgutachtens, wie für die Durchführung der Schwangerschaftsunterbrechung aus medizinischer Indikation wird besonders hingewiesen.

Schrifttum: Bröse: Zbl. Gynäk., 39 (1915), S. 227. — Bumm, E.: Zbl. Gynäk., 39 (1915), S. 227. — Dührssen, A.: Zbl. Gynäk., 28 (1904), S. 409.

— Falk, R.: Zbl. Gynäk., 50 (1926), S. 673. — Föllmer u. Könninger: Arch. Gynäk., 179 (1951), S. 694. — Gänssbauer, H.: Zbl. Gynäk., 74 (1952), S. 1688. — Garfunkel, P.: Zbl. Gynäk., 50 (1926), S. 2324. — Hartl, H.: Zbl. Gynäk., 73 (1951), S. 1832. — Hartl, H.: Zbl. Gynäk., 74 (1952), S. 705. — Kaminsky, B.: Zbl. Gynäk., 52 (1928), S. 967. — Kastendieck, H.: Zbl. Gynäk., 67 (1943), 1905. — Küstner, H.: Zbl. Gynäk., 74 (1952), S. 703. — Mayer, A.: Zbl. Gynäk., 74 (1952), S. 1681. — Meissner, H.: Zbl. Gynäk., 74 (1952), S. 1545. — Weissenberg, S.: Zbl. Gynäk., 50 (1926), S. 1262.

Ansch. d. Verf.: Priv.-Doz. Oberarzt Dr. med. H. Muth, Münster/Westf., Univ.-Frauenklinik.

DK 618.14 - 089 : 612.631

Aus dem Allgem. Krankenhaus Rissen, Hamburg (Ärztl. Dir.: Chefarzt Dr. P. Eggers), Bakt.-serolog. Abteilung (Ltd. Arzt: Dr. med. Otto Fenner)

Vergleichende Untersuchungen einer immunologischen Schwangerschaftsreaktion*) zum Kröten-Schwangerschaftstest

von OTTO FENNER

Zusammenfassung: Eine Immunreaktion zur Diagnose der Schwangerschaft Humanchoriogonadotropin-Test (Ortho-Schwangerschaftstest) wurde parallel zum Krötentest an 100 Fällen überprüft. Die Methode ergab in 96 Fällen sichere Ergebnisse. Damit liegt sie im Bereich der üblichen Treffsicherheit. Sie wird zum gleichen Zeitpunkt positiv wie die Tierversuche. Der Ortho-Schwangerschaftstest ist die erste vom Tierversuch unabhängige brauchbare Schwangerschaftsreaktion.

Summary: Comparative Study of an Immunologic Pregnancy Test with the Pregnancy Test on Toads. An immunity reaction for the diagnosis of pregnancy, the human-chorionic gonadotrophin test (Ortho-Pregnancy Test), was carried out, parallel to the toad test, in 100 cases. The method showed precise results in 96 cases. It thus lies within the usual range of accuracy. It gets positive

Die Laboratoriumsdiagnostik der Schwangerschaft stützt sich seit 1927 unbestritten auf den Tierversuch. Alle anderen Methoden konnten sich nicht durchsetzen. Eine neue immunologische Reaktion (Ortho-Schwangerschaftstest) ist erstmalig dem Tierversuch gleichzusetzen.

Die Entwicklung der Schwangerschaftsdiagnostik ist charakterisiert durch das Bestreben nach möglicher Abkürzung der Versuchszeit. Der 1927 von Aschheim u. Zondek (1, 12) eingeführte Nachweis an der weiblichen infantilen Maus dauert 100 Stunden. (Die Zeit für den evtl. nötigen histologischen Schnitt ist dabei nicht berechnet!) Die heute noch als klassische Methode geltende Reaktion zeichnet sich durch eine Treffsicherheit von etwa 97% aus. Sie wird zwischen dem 4. und 11. Tage nach Ausbleiben der Regel, etwa 40 Tage nach dem ersten Tag der letzten vorhandenen Regel, positiv. Die Ablesung von 3 Stufen HVR I—III und die Untersuchung des Scheidenepithels der Maus haben darüber hinaus für die Diagnostik hormonaler Störungen eine gewisse Bedeutung. Nachteilig ist neben der langen Versuchszeit die Empfindlichkeit der infantilen Tiere. Sterben diese, bevor die Reaktion erkennbar wird, so ist in vielen Fällen die akute Fragestellung durch die Ereignisse überholt und längst geklärt.

at the same time as the animal experiments. The Ortho-pregnancy test is the first efficient pregnancy test independent of animal experiments.

Résumé: Recherches comparatives portant sur une immunoréaction de la grossesse et le test de la grossesse sur le crapaud. L'auteur a vérifié dans 100 cas, parallèlement au test de la grossesse sur le crapaud, une immunoréaction pour le diagnostic de la grossesse, dit test de la gonadotropine placentaire humaine (Ortho-test de la grossesse). Cette méthode fournit dans 96 cas des résultats certains; elle présente par conséquent la précision diagnostique habituelle. La réaction positive se manifeste dans le même délai que dans les expérimentations animales. L'Ortho-test de la grossesse est la première réaction de la grossesse, utilisable indépendamment de l'expérimentation animale.

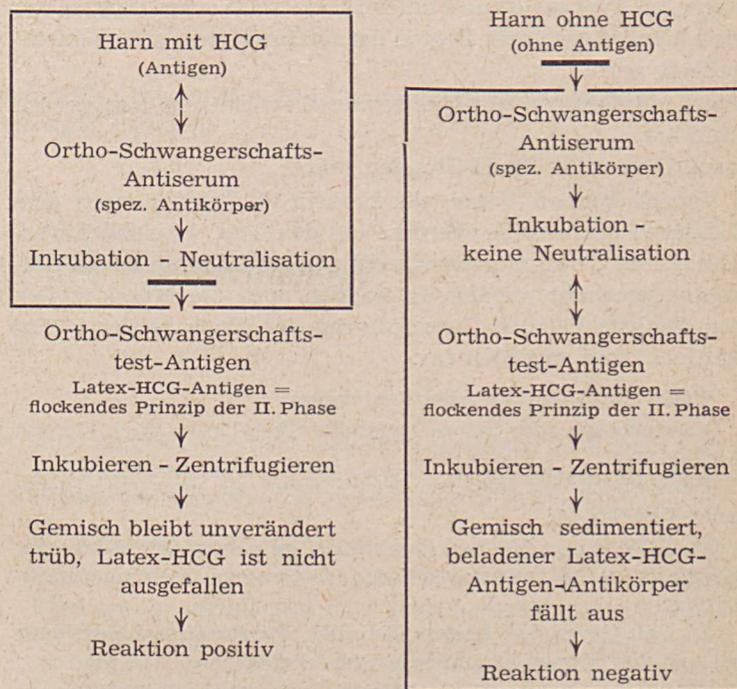
Modifikationen, wie der Friedmann-Test mit einer Versuchszeit von 48 Stunden und die Verwendung von Ratten mit 30 Stunden Reaktionsdauer konnten sich nicht generell durchsetzen. Einerseits ist die Benützung von Kaninchen (Friedmann) zu aufwendig, andererseits reagiert die Ratte individuell sehr unterschiedlich.

Die Anuren-Teste brachten wieder einen echten Zeitgewinn. Die auf 6 Stunden abgekürzte Versuchszeit, bei einer Treffsicherheit von 96—97% entspricht den Wünschen der operativen Gynäkologie. — Man verwendet besser Serum statt Urin, weil die Tiere gegen alle toxischen Stoffe außerordentlich empfindlich sind. Sie reagieren nicht oder sterben. Dies ist sicher die häufigste Fehlerquelle für falsch-negative Ergebnisse. In den Hochsommermonaten ist die Hodenaktivität bei Kröten und Fröschen eingeschränkt, der Lurchtest ist hier besonders unsicher (Lübnow [9]). Auch schwache, individuell sehr unterschiedliche Hormonproduktion in der Frühschwangerschaft und nach dem 5. Monat ergeben gelegentlich falsch-negative Ergebnisse. — Besonders die Frage des Fruchttodes ist ohne sehr sorgfältige klinische Beobachtung nicht nach einem negativen Ergebnis eines Tierversuches als geklärt anzusehen. Mehrfache Kontrollen sind unerlässlich. Inwieweit der Oestriol-Test als Index für die Plazentarfunktion Bedeutung gewinnen wird, ist noch nicht sicher (Bachmann [3]), (Greene, Touchstone, Fields [7]).

Die Anuren reagieren auf das vermehrte Choriongonadotro-

*) Ortho-Schwangerschaftstest
Generalvertrieb für Deutschland: Cilag-Chemie G.m.b.H., Alsbach/Bergstraße.

Tabelle 1



pin der Schwangeren oder eines an Blasenmole oder Chorionepitheliom Erkrankten. Die Reaktion wird wie bei der AZR etwa 40 Tage nach der letzten vorhandenen Regel (etwa 11 Tage nach Ausbleiben der erwarteten Regel) positiv. Falsch-positive Ergebnisse sollen nach Gaben von Luteosid, Stilböstrol, Oestradiolbenzoat, bei Corpus-luteum-Zysten sowie nach H.V.L.-Präparaten aufgetreten sein.

Die Haltung der Anuren ist sehr schwierig, die Fütterung teuer. Nicht selten treten im Spätwinter Engpässe in der Lieferung auf. Epidemien können ganze Bestände in wenigen Tagen vernichten, ohne daß ein Nachschub möglich ist. Der Wunsch nach einer reproduzierbaren, spezifischen, von der Empfindlichkeit des Tieres, toxischen und jahreszeitlichen Störungen unabhängigen Untersuchungsmethode führte zu zahlreichen Versuchen. Keines der bisher angegebenen Verfahren hielt einer sorgfältigen Prüfung stand. Der direkte Hormonnachweis als Routinediagnostikum ist zu schwierig.

Es ist möglich, Choriongonadotropin des Menschen (HCG = **Humanchoriongonadotropin**) nachzuweisen. Die Erkenntnis, daß kontinuierliche Injektionen von HCG bei Tieren eine spezifische Antikörperbildung auslösen, geht schon auf die Versuche von Zondek (12) zurück. Komplementbindung, Agglutination, Präzipitation und Hämagglutination (Brody u. Carlström) (10), (Mc Kean) (10), (Wide u. Ganzell) (10) ergaben keine befriedigenden Ergebnisse. Eine **Präzipitation mit einem Polystyren-Latex-HCG-Gemisch** als Antigen ergab eine sichere und guterkennbare Reaktion. Nach vergleichenden Untersuchungen in den Ortho-Forschungslaboratorien zeigte der immunologische Schwangerschaftstest in 97,3% der Fälle, Tierversuche in 97,8% richtige Ergebnisse.

Der Nachweis von HCG erfolgt grundsätzlich im Urin. Man versetzt frischen Harn mit einem Schwangerschaftstestantiserum (Antikörper). Enthält der Urin HCG (Antigen), so verbinden sich diese beiden Substanzen. Es kommt zu einer spezifischen Antigen-Antikörperreaktion. Das vorhandene HCG wird neutralisiert. Bei diesem Vorgang tritt keine erkennbare Veränderung, Agglutination, Flockung, Klärung oder Präzipitation ein. Deshalb muß wie bei der WaR ein „Indikatorsystem“ nachgeschoben werden. Hierzu dient reines HCG als Antigen, welches auf Latexpartikelchen fixiert ist. Der ganze Versuch läuft in zwei Phasen ab, in deren Mittelpunkt als bindungsfähiger Stoff das spezifische Schwangerschaftstestantiserum steht. Wird es in der ersten Phase durch das HCG des Urins neutralisiert, so bleibt das später zugegebene Latex-HCG-Antigen-Gemisch stabil. Zentrifugiert man den Ansatz, so bleibt dieser unverändert milchig-körnigtrüb und zeigt somit die positive Reaktion an.

Enthält der Urin kein HCG, so kann sich in der 2. Phase das nachgeschobene Latex-HCG-Antigen mit den spezifischen Antikörpern des nicht neutralisierten Latexgemisches verbinden. Die immuniweißbeladenen Latexpartikel werden größer, schwerer, die elektrische Ladung verändert sich. Das ganze Gemisch wird unstabil und kann durch Zentrifugieren un schwer ausgefällt werden. Der Röhrcheninhalt ist klar, die Latexpartikel finden sich auf dem Boden des Röhrchens und zeigen die negative Reaktion an.

Die notwendigen Reagenzien sind in einem **Testsatz (Ortho)** zusammengestellt, der einen Standard enthält, der die Ableseung vereinfacht. Man geht am besten folgendermaßen vor:

A. Testurin

1. Zu verwenden ist der erste Morgenurin.
2. Der Urin muß innerhalb von 12 Stunden verarbeitet werden.
3. Der Urin wird zunächst mit hoher Geschwindigkeit 3 Minuten lang zentrifugiert.

4. Der klare Urin wird vorsichtig abgossen und für den Test verwendet.

B. Testmethode

1. 0,5 ml Ortho-Schwangerschaftstest-Antiserum werden in ein mit „Ortho-Disposable-Test-Tube“ beschriftetes Spezialröhrchen gefüllt.
2. 0,5 ml des zentrifugierten Urinüberstandes dazugegeben und gut gemischt.
3. Das Röhrchen wird zum Inkubieren für 1 Stunde bei 37°C in ein Wasserbad oder einen Brutschrank gestellt (Minimalzeit, darf bis auf 2 Stunden ausgedehnt werden).
4. Nach einstündiger Inkubationszeit wird 1,0 ml des gut durchgeschüttelten Ortho-Schwangerschaftstest-Antigens dazugegeben und gut gemischt.
5. Erneutes Einstellen des Röhrchens in ein Wasserbad oder einen Brutschrank, diesmal für zwei Stunden bei 37°C inkubieren (Minimalzeit, darf nur um höchstens 15 Minuten überschritten werden!).
6. 2 Minuten bei 1000 x g (entspricht ungefähr 3000 Umdrehungen pro Minute bei den meist gebrauchten klinischen Zentrifugen*) zentrifugieren. Diese 2 Minuten sollten genau eingehalten werden und beginnen mit dem Einschalten und enden mit dem Ausschalten des Zentrifugenmotors.

C. Ablesen des Testes

1. Der Überstand wird mit dem gut geschüttelten Ortho-Trübungsstandard (Turbidity Standard) gegen den schwarzen Strich auf der Packung verglichen.
 - a) Trübung gleich oder größer als Standard — Hormonnachweis positiv, Schwangerschaft.
 - b) Trübung geringer als Standard — Hormonnachweis negativ, keine Schwangerschaft.

Mögliche Fehlerquellen

- a) eine positive Reaktion kann ebenfalls entstehen bei Chorionepitheliom oder Blasenmole, falsch-positive Reaktionen, wenn hohe Dosen von Azetylsalizylsäure vor der Urinabgabe eingenommen wurden.

*) Um sich zu versichern, daß man richtig zentrifugiert, sind Kontrollen angezeigt. Dazu benütze man an Stelle von Urin Kochsalzlösung für einen negativen Ausfall und einen sicheren Schwangerenurin für den positiven Ausfall.

b) eine falsch-negative Reaktion kann entstehen:
wenn der Test bei einer Frau früher als 6 Wochen oder später als 4 Monate nach dem Beginn der letzten Menstruation durchgeführt wird,
wenn ein Testurin ein spezifisches Gewicht von weniger als 1,015 hat,
wenn Urine älter als 12 Stunden sind.

Jedoch können Urine, die binnen 12 Stunden nach dem Urinieren eingefroren werden, für den Test verwendet werden; solche Urine müssen vor dem Zentrifugieren durch Umkehren gemischt werden. Es müssen auch die Möglichkeiten von Fehlern bei der Durchführung des Tests berücksichtigt werden. Diese schließen ein:

Ungenaueres Pipettieren der Reagenzien.

Verwendung von Ortho-Disposable-Test-Tubes öfter als nur einmal.

Verwendung von anderen Teströhrchen als die Ortho-Disposable-Test-Tubes.

Unzulängliches Mischen des Urins mit dem Ortho-Schwangerschaftstest-Antiserum und/oder Ortho-Schwangerschaftstest-Antigen.

Zentrifugieren im letzten Teil der Durchführung des Tests bei zu hoher oder zu niedriger Geschwindigkeit.

Ungenaueres Ablesen beim Vergleich des Ortho-Trübungsstandards mit dem Resultat.

Wir untersuchten inzwischen nebeneinander 100 Urin- und Serumproben. Für die Krötenteste wurde meistens Serum, für den Ortho-Schwangerschaftstest nur Urin verwendet.

Die Diagnosen des Materials umfaßten vorwiegend die Frage nach einer Frühgravidität, zweifelhafte Gravidität, zweifelhafte Aborte, Blutungen bei bestehender oder fraglicher Gravidität, Blasenmole, Extrauterinengravidität, normale Schwangerschaften vor und nach dem 5. Monat.

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle stimmten Krötentest und Ortho-Schwangerschaftstest überein. Lediglich die folgenden Fälle wichen voneinander ab:

In einem Fall starben die Tiere — die HCG-Reaktion war positiv.

Bei Frühgravidität reagierten die Kröten einmal positiv, die HCG negativ, — in 3 Fällen die Krötenteste negativ und die HCG positiv.

Bei einem sicheren Abort war die Kröte schon negativ — die HCG noch positiv.

Bei einer Gravidität Mens 5—6 mit Blutungen, aber Kindsbewegungen, war die Kröte positiv — die HCG negativ.

Bei sicherer Gravidität vor dem 5. Monat war in einem Fall der Krötentest positiv, die HCG negativ. In einem anderen Falle der Krötentest negativ, die HCG positiv.

Bei einer Gravidität im 5. Monat war die Kröte stark positiv, die chemische Reaktion zweifelhaft.

Bei einer Gravidität im 6. Monat war die Kröte schwach positiv, die chem. Reaktion negativ.

Prolutongaben in einem Fall vermochten beide positiven Reaktionen nicht zu beeinflussen.

In einem Fall führte die getrennte Untersuchung von Blut und Urin zur Aufklärung einer Verwechslung, weil die Teste unterschiedlich ausfielen.

Bei meinen 100 Fällen zeigte der Krötentest eine Treffsicherheit von 97mal
3 Fälle waren falsch-negativ.

der HCG-Ortho-Schwangerschaftstest eine Treffsicherheit von 96mal

3 Fälle waren falsch-negativ,
1 Fall falsch-positiv.

Bei Verwendung beider Teste nebeneinander konnten alle Fälle diagnostiziert werden. Dieses Vorgehen wäre ideal. In besonderen Fällen sollte man zur sicheren Klärung ohne Ansehung der Kosten so verfahren. Die Durchführung der HCG-Ortho-Schwangerschaftsreaktion wird überall dort möglich sein, wo eine hochoptimale Laborzentrifuge vorhanden ist. Der Test ist nicht billig, aber einfach. Schwierigkeiten durch Tierhaltung und Beschaffung entfallen. Urin als Untersuchungsmaterial erspart die Blutentnahme. Die kurze Versuchszeit ermöglicht ohne gefährdenden Zeitverlust die kontrollierende Wiederholung. Die Schwangerschaftsuntersuchung beinhaltet eine ärztliche Diagnose, die aus grundsätzlichen Erwägungen dem approbierten Arzt vorbehalten bleiben muß. Der immunologische Humanchoriongonadotropin-Nachweis ist der erste vom Tierversuch unabhängige brauchbare Schwangerschaftstest.

Schrifttum: 1. Aschheim, S.: Die Schwangerschaftsdiagnose a. d. Harne. S. Karger, Berlin (1933). — 2. Brazel, E.: N. med. Welt (1950), 11, S. 384. — 3. Bachmann, C. J.: Biologe, Vol. 131 (1939), No. 2. — 4. Brasche: Dtsch. med. Wschr. (1954), 22, S. 893. — 5. Frank, P.: Pharm. Ztg. (Frankfurt), 107 (1962), 16, S. 537—539. — 6. Friedmann, M. H. a.: Amer. J. Obstet. Gynec., 21 (1931), S. 405. — 7. Greene, Touchstone, J. W. u. Fields: Amer. Obstet. Gynec., 17 (1961), No 3. — 8. Hensel: Dtsch. med. Wschr. (1961), 39, S. 1871. — 9. Lübow: Therapie des Monats. Boehringer & Söhne, Mannheim. H. 5 (1958). — 10. Ortho Research Foundation: Seminar Report No 568 Pl. — 11. Boehringer Soehne, Mannheim: Methoden der biologischen Schwangerschaftsreaktion. Studienreihe Boehringer. — 12. Zondek: Hormone des Ovariums und des Hypophysen-Vorderlappens. 2. Aufl., J. Springer, Wien (1935).

Anschr. d. Verf.: Dr. med. Otto Fenner, Ltd. Arzt der bakt.-serolog. Abt. am Allg. Krhs., Hamburg-Rissen.

DK 618. 2 - 072.85