

## TECHNIK

Aus dem Hormonlaboratorium, Abt. Geburtshilfe und Frauenheilkunde, der Univ. Edinburgh, Königl. Krankenhaus, und aus den Organon-Laboratorien, Newhouse, Lanarkshire, Schottland

### Vereinfachter Pregnosticon-Test für die Schwangerschaftsdiagnose

von B. M. HOBSON und D. DINGWALL

**Zusammenfassung:** Pregnosticon wurde mit dem „all-in“-Test verglichen (letzterer ist eine vereinfachte Form des Pregnosticon-Tests). Beide Verfahren ergaben in 946 von 956 untersuchten Harnen die gleichen Resultate.

Hieraus folgt, daß der „all-in“-Test eine zuverlässige Methode zur Schwangerschaftsdiagnostik ist. Seine Empfindlichkeit ist etwas geringer als die des Pregnosticon-Tests, was jedoch kaum Einfluß auf seine Zuverlässigkeit hat.

Im Jahre 1960 veröffentlichten Brody u. Carlstrom (1), McKean (2) sowie Wide u. Gemzell (3) die Ergebnisse, die sie mit verschiedenen immunologischen Methoden der Schwangerschaftsdiagnose erhalten hatten. Seither wurden mehrere **Schwangerschaftstests** als Handelspräparate auf den Markt gebracht und mit unterschiedlichem Erfolg angewendet (4). Immunologische Schwangerschaftstests beruhen ebenso wie die weitgehend verdrängten biologischen Tests auf dem Nachweis eines von der Plazenta gebildeten gonadotropen Hormons, des menschlichen Choriongonadotropins (HCG), im Harn. Dieses Eiweißhormon wirkt als Antigen, wenn es einer anderen Spezies als dem Menschen injiziert wird, so daß ein Anti-HCG-Serum im Kaninchen leicht herzustellen ist. Ein solches Antiserum reagiert mit HCG als Antigen in einer immunologischen Reaktion. Diese In-vitro-Reaktion erfolgt unsichtbar, wenn nicht spezielle Methoden zur Sichtbarmachung angewendet werden. Das Mischen vorbehandelter inerter Partikel mit dem Antigen und Antiserum bewirkt eine Reaktion, die beobachtet werden kann.

Es wurden verschiedene besondere Materialien benutzt, darunter Polystyren-Latex, Wismuttannat und Säugetier-Erythrozyten. Die im Handel erhältlichen Schwangerschaftstests verwenden entweder

**Summary: A simplified form of Pregnosticon test in view of pregnancy diagnosis.** In this study Pregnosticon was compared with the "All-in" test. The latter is a simplified form of the Pregnosticon test. In 946 out of 956 urines tested both preparations gave the same results.

This means that the "All-in" test is a reliable method of pregnancy diagnosis. Its sensitivity is somewhat less than that of the Pregnosticon test, but this, however, has hardly any effect on reliability.

Latex-Partikel oder Erythrozyten als Indikatoren. Derzeit werden das Antiserum und das Antigen, entweder trockengefroren oder als Lösung, einzeln geliefert und müssen für jeden Test gemischt werden. Die Herstellung eines Tests, in dem sich alle Reagenzien trockengefroren in einer einzigen Ampulle befinden, ist eine vernünftige Entwicklung zur Vereinfachung der bestehenden Methoden.

Eine solche Modifikation des Hämagglutinations-Hemmungstests „Pregnosticon“ wurde vorgenommen und mit dem Standard-Pregnosticon-Test anhand der Harnproben von etwa 1000 Frauen verglichen. Die Genauigkeit bei 30 930 Pregnosticon-Tests, die aus 74 im Schrifttum publizierten Übersichten zusammengetragen worden waren, betrug 98,8%. Die Genauigkeit bei 8894 anderen Pregnosticon-Tests, die im Hormon-Laboratorium durchgeführt und klinisch überprüft worden waren, betrug 99,1% (5). Aufgrund dieser Unterlagen dürfte eine Zuverlässigkeit von 99% für Pregnosticon repräsentativ sein.

#### Material und Methoden

Da es die Absicht dieser Untersuchung war, den *modifizierten Pregnosticon-Test* unter praxisgerechten Bedingungen mit dem herkömmlichen Pregnosticon-Test zu vergleichen, wurden die beiden

Tests an nicht ausgewählten Harnproben gleichzeitig durchgeführt. Die Angaben über die letzte Menstruation (LM) wurden mit 833 von den 956 getesteten Harnproben ergänzt; die Aufteilung dieser Harnproben wurde gemäß dem Zeitraum zwischen der LM und dem Zeitpunkt des Tests vorgenommen, wie dies Tabelle 1 zeigt.

Tabelle 1

Zeitraum	Anzahl der Harnproben	% der Gesamtanzahl
30—39 Tage einschl.	43	5,2
40—49 Tage einschl.	194	23,2
50—59 Tage einschl.	162	19,4
60—69 Tage einschl.	127	15,2
Mehr als 70 Tage	307	36,8
Insgesamt	833	100,0

Alle Harnproben wurden beim Empfang nummeriert; 10 ml von jeder Probe wurden 10 Min. lang mit einer Geschwindigkeit von 3000 U/Min. zentrifugiert.

Im Zusammenhang mit der Anzahl der in jeder Arbeitsperiode zu testenden Harnproben gaben wir dem Zentrifugieren den Vorzug, die Filtrierung durch Papier ist aber normalerweise mehr als ausreichend. Für jede Harnprobe verwendeten wir eine besondere serologische Pipette mit 0,1-ml-Einteilung und entnahmen der Oberschicht je 0,1 ml für den Test. Für den Pregnosticon-Test und den Pregnosticon-„all-in“-Test wurden besondere Sichtständer verwendet, in denen die Ergebnisse der beiden Tests nach 2 Stunden abgelesen wurden. Die Reaktionsbilder der beiden Tests wurden nur dann sofort verglichen, wenn sie einen Unterschied erkennen ließen.

#### A) „Pregnosticon“

Die Test-Reagenzien bestehen aus:

1. HCG-sensibilisierten Schaf-Erythrozyten, in trockengefrorenem Zustand in Flakons mitgeliefert; der Inhalt jedes Flakons ist nach Rücksuspension für 10 Tests reichlich bemessen;
2. Flakons mit wäßriger Suspensionsflüssigkeit für die Erythrozyten; und
3. Reagenzampullen mit trockengefrorenem Antiserum für einen Test.

Das Antiserum darf nur mit den Erythrozyten aus derselben Packung verwendet werden, da die Verwendung von Komponenten aus verschiedenen Packungen die Sensibilität und die Zuverlässigkeit des Tests in Frage stellt. Der Test wird durchgeführt, indem man zuerst 0,1 ml des zentrifugierten oder filtrierten Harns dem Antiserum hinzufügt, und danach 0,4 ml der zubereiteten Erythrozyten-Suspension. Dieses Reaktionsgemisch wird gut geschüttelt und in einem Ständer weggesetzt. Nach 2 Stunden wird das Ergebnis in einem schräg unten am Ständer befestigten Spiegel abgelesen. Ein deutlich umgrenzter brauner Ring am Ampullen-

boden bedeutet ein „positives“ Ergebnis, d. h. daß der betreffende Harn von einer Schwangeren stammt. „Negativ“ ist das Ergebnis, wenn sich in der Ampulle ein diffuser, strohgelber Bodensatz befindet. Hatten sich abnormale Niederschlagsmuster gebildet, dann wurde der Test wiederholt.

#### B) Pregnosticon-„all-in“

In einer einzigen Ampulle, die auch hier wieder als Reagenzglas dient, befinden sich die Erythrozyten, die Suspensionsflüssigkeit und das Antiserum in trocken-gefrorenem Zustand in 3 getrennten Schichten. Der Test wird durchgeführt, indem man zuerst 0,1 ml des zentrifugierten oder filtrierten Harns hinzufügt und danach 0,4 ml destilliertes Wasser. Dieses Reaktionsgemisch wird gut geschüttelt und in einem Ständer weggesetzt. Wie bei Pregnosticon wird auch hier das Ergebnis nach 2 Stunden abgelesen.

Die Gefriertrocknung der „unverträglichen“ Komponenten erfolgte in getrennten Schichten. Eine Wechselwirkung zwischen den Erythrozyten und dem Antiserum wird verhütet, indem man die Lösungen einzeln in die Ampulle abfüllt, und zwar so, daß die Gefriertrocknung der einen Schicht abgeschlossen ist, ehe die nächste Lösung hinzugefügt wird, und indem gewährleistet ist, daß die eingefrorenen Schichten vor und während der Gefriertrocknung niemals schmelzen können.

Es ist wichtig, daß bei der Ausführung des Tests der Harn vor dem Wasser hinzugefügt wird, da andernfalls eher eine teilweise Hämagglutinationsumkehr- als eine Hemmungsreaktion auftritt und dieser Reaktionstyp normalerweise eine längere Zeitspanne benötigt. Die Technik würde noch weiter vereinfacht, wenn man eine größere Harnmenge und kein Wasser hinzufügen würde. Mit der Steigerung der Harnmenge nimmt aber auch die Menge jener Stoffe zu, die die Reaktion nachteilig beeinflussen. Tests, die mit dieser Methode an mehreren hundert Harnproben durchgeführt worden waren, haben gezeigt, daß die Anzahl der falsch negativen Ergebnisse signifikant größer war, wodurch die Gesamtzuverlässigkeit nur etwa 90% betrug. Da natürlich jeder modifizierte Test die gleiche Genauigkeit aufweisen muß wie der ursprüngliche Test, wurde diese besondere Abwandlung des Standard-Tests als ungeeignet abgelehnt.

#### Empfindlichkeit

Sie wird definiert als die geringste HCG-Menge, die die Hämagglutinationsreaktion von Pregnosticon und des Pregnosticon-„all-in“-Tests unterbindet. Die Empfindlichkeit von Pregnosticon war vom Erzeuger so gewählt worden, daß die Reaktion positiv ausfällt, wenn die HCG-Konzentration im Harn 1000 I. E. oder mehr pro Liter beträgt. In gleicher Weise war die Empfindlichkeit des Pregnosticon-„all-in“-Tests so gewählt worden, daß eine Konzentration von 1500 I. E. HCG oder mehr pro Liter Harn ein positives Ergebnis erbringt.

Sowohl im ursprünglichen als auch im modifizierten Pregnosticon-Test wurde 0,1 ml Harn verwendet; das bedeutet, daß 0,1 I. E. bzw. 0,15 I. E. HCG nachgewiesen werden können.

## Ergebnisse

Im Erstversuch erhielten wir bei 923 der 956 Harnproben gleiche Ergebnisse. 33 Tests wurden mit denselben Harnproben nochmals durchgeführt, und zwar, weil bei 32 Harnproben in einem oder beiden Tests das Niederschlagsmuster abnormal war und weil in 1 Fall die Ergebnisse der beiden Tests gegensätzlich waren. Die Übereinstimmung zwischen den beiden Tests betrug nach der Wiederholung der 33 Tests 98,9%. Bei 10 Tests gab es noch immer ein unterschiedliches Ergebnis zwischen dem Pregnosticon- und dem „all-in“-Test, weshalb die klinische Diagnose Aufschluß geben mußte. Diese 10 Harnproben stammten von 5 Frauen mit normaler Schwangerschaft, von 4 Frauen mit drohendem Abort und von 1 Frau, die nicht schwanger war. In allen 10 Fällen war die Pregnosticon-Reaktion positiv, so daß eines dieser Ergebnisse falsch positiv war (der oben angeführte Gegensatz). Beim „all-in“-Test waren 5 Reaktionen falsch negativ. Die 4 negativen Ergebnisse von den Frauen mit drohendem Abort wurden nicht als unrichtig gewertet, weil Schwangerschaftstests bei drohendem Abort gleichlautende Ergebnisse erbringen (Tabelle 2).

Die 5 falsch negativen „all-in“-Ergebnisse waren nicht auf eine besondere Materiallieferung zurückzuführen. 3 Lieferungen wurden verwendet; die Anzahl der Tests, die mit den einzelnen Lieferungen durchgeführt wurden, war 232, 408 und 316. Die Anzahl der unrichtigen Ergebnisse war bei den einzelnen Lieferungen 3, 2 und 0.

## Diskussion

Hauptziel dieser Untersuchung war es, die relativen Vorzüge von Pregnosticon, einem eingebürgerten Hämagglutinations-Hemmungstest, mit dem „all-in“-Test zu vergleichen. Beide Methoden erbrachten bei 946 der 956 Harnproben das gleiche

Tabelle 2

Test	Klinische Diagnose		
	schwanger	nicht schwanger	drohender Abort
Pregnosticon	5 pos. Erg.	1 pos. Erg.	4 pos. Erg.
„all-in“	5 neg. Erg.	1 neg. Erg.	4 neg. Erg.

Ergebnis. Bei 10 Harnproben stimmten die Ergebnisse der beiden Tests nicht überein. Mit Ausnahme eines falsch positiven Pregnosticon-Ergebnisses zeigte die klinische Diagnose, daß die Gegensätze zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden dem „all-in“-Test anzulasten waren, der negative Ergebnisse erbrachte, während die Pregnosticon-Ergebnisse richtig positiv waren. Es darf als nahezu sicher gelten, daß dies auf den Unterschied in der Empfindlichkeit der beiden Methoden zurückzuführen ist. Aus den Ergebnissen geht klar hervor, daß zwischen dem vereinfachten „all-in“-Test und dem empfindlicheren Pregnosticon-Test eine weitgehende Übereinstimmung besteht.

## Schlußfolgerung

Von dieser Untersuchung ausgehend darf gefolgert werden, daß der „all-in“-Test ein zuverlässiges Schwangerschaftsdiagnostikum ist. Die Empfindlichkeit ist etwas geringer als die des Pregnosticon, was jedoch die Zuverlässigkeit des Tests nicht wesentlich beeinträchtigt.

Schrifttum: 1. Brody, S. u. Carlstrom, G.: *Lancet* (1960/II) 99. — 2. McKean, C. M.: *Amer. J. Obstet. Gynec.* 80 (1960) 596. — 3. Wide, L. u. Gemzell, C. A.: *Acta endocr. (Kbh.)* 35 (1960) 261. — 4. Hobson, B. M.: *J. Reprod. Fert.* 12 (1966) 33. — 5. Hobson, B. M.: *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwth* (1968).

Anschr. d. Verfasser: Dr. med. B. M. Hobson, Univ. Edinburgh, Königl. Krankenhaus, Abt. f. Geburtsh. u. Frauenneilkunde, Edinburgh 3, u. Dr. med. D. Dingwall, Organon-Laboratorien, Newhouse, Lanarkshire/Schottland.