

KISA SÜRELİ İMMÜNOLOJİK GEBELİK TESTİ*

Dr. Şerif H. Çanga **

Dr. Nejat Y. Ilgaz ***

Gebeliğin erken devrede teşhisi, Aschheim ve Zondek tarafından keşfedilen infantil beyaz dişi farelerde yapılan ilk gebelik testi ile başlamıştır. (1). Biyolojik gebelik testleri dediğimiz bu deneylere daha sonra değişik pek çok tipleri ilâve edilmiştir (2). Bu suretle daha kısa zamanda netice alınması mümkün olmuştur. Tavşanlarda yapılan Friedman gebelik testi (3), ilk bulunan Aschheim - Zondek testine nazaran daha kısa zamanda cevap verir ve daha az zahmetlidir. Daha sonra bulunan gebelik testlerinde (4,5) sonuç verme süresi daha kısalmış ve nihayet iki dakikaya kadar inmiştir. Böylece eskiden kullanılan uzun ve yorucu gebelik testlerinin yerine bugün çok kısa zamanda sonuç veren ve muayene odasında yapılabilen basit ve kolay test metotları kullanılmaktadır (2). Eski ve uzun süreli metotlar ise bugün artık terk edilmiştir. Halen en çok kullanılan gebelik testleri şunlardır :

- 1 — İmmünolojik gebelik testleri : Tüpde veya lamda yapılır. (2)
- 2 — Galli - Mainini testi (6) : Erkek kara kurbağalarında yapılır. Bunlardan başka yine kısa zamanda sonuç veren :
- 4 — Soskin testi (2, 5, 7) : Prostigmine zerk edilerek yapılır.

* Bu yazımız daha önce A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuasında (Vol: 18, Sayı: 1, Sayfa: 57, 1965.) yayınlanan "İmmünolojik esasa dayanan gebelik testi" adındaki makalemizin devamını teşkil etmektedir.

** A.Ü. Tıp Fakültesi Kadın-Doğum Kliniği Kürsü Profesörü.

*** A.Ü. Tıp Fakültesi Kadın-Doğum Kliniği Profesörü.

- 5 — **Hormonal uyarma testi** (2) : 1/5, 1/10, veya 1/15 oranında östradiol ve progesteron karışımının zerk edilmesiyle yapılır.
- 6 — **Hormonal Aktivite testi** (8) : Servikal mukus ile yapılır. gibi gebelik testleri de oldukça sık kullanılırlar.

İmmünolojik reaksiyonlara dayanan serolojik metotlarla insan koriyonik gonadotropin (HCG) hormonunun tayin edilmesiyle yapılan gebelik testi ilk defa 1960 yılında Wide ve Gemzell (9), Mc Kean (10), Brody ve Carlstrom (11), Rao ve Şahani (13) nin çalışmaları ile ortaya konmuştur. Bu metot ile gebe kadının serum ve idrarında bulunan koriyonik gonadotropin, Kompleman - Fiksasyon, hemagglütinasyon - inhibisyon ve presipitin reaksiyonları ile meydana çıkarılabilir.

MATERYEL VE METOD

Polikliniğe müracaat eden ve gebelik şüphesi teşhisiyle gebelik testi yapılması istenen hastalardan 226 sında immünolojik gebelik testi, pregnosticon «All-in» ve pregnosticon planotest ile yapıldı.

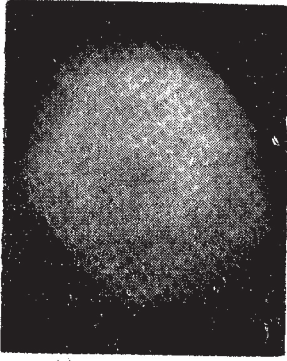
Daha önceki yazımızda (2) tüpte yapılan pregnosticon testi anlatılmış ve yapılış şekli ayrıntılarıyla izah edilmişti. Bu yazımızda aynı test tekrar edilmeden, bu defa yalnız lam üzerinde yapılan pregnosticon planotest anlatılacaktır.

Testin yapılmasında deney hayvanlarına ihtiyaç yoktur. Deney için az miktarda idrar yetişir. Berrak idrar kullanılmaktadır. Bulanık idrarları süzmek için her kutuya bir huni tüb ve süzgeç kâğıtları konulmuştur. Her ne kadar test için bir damla idrar yeterse de, süzme yapıldığı taktirde huniyi dolduracak kadar idrar süzmek daha doğrudur. Çünkü çok az miktarda idrar süzülürse içindeki HCG in süzgeçte tutulma oranı yüksek olabilir, ve idrardaki hormon konsantrasyonu azalabilir. Kullanılan lamaların hep aynı büyüktükte olmaları lâzımdır. Bunu sağlamak için damlalıklar dik tutulmalı ve lama değiştirilmemelidir. Damlalarda hava kabarcığı olmasına dikkat edilmelidir.

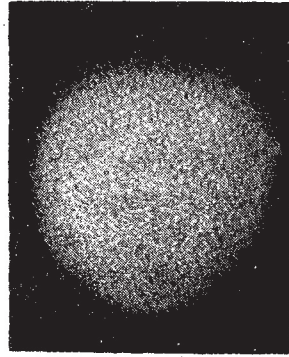
Lamdaki daire içine bir damla antiserum ve bir damla idrar koyulur. Spatülle iyice karıştırılır. Sonra Lateks şişesi çalkalanır

ve bir damla lateks süspansiyonu lamdaki karışıma ilâve edilir. Spatülle karıştırılıp daire yüzeyine iyice yayılır. İki dakika süreyle lam elde sağa sola çevrilerek sıvının yavaşça daire içinde hareketi sağlanır. Bundan sonra netice okunmağa hazırdır.

- Aglutinasyon yoksa, sonuç pozitifdir ve gebelik vardır (Şekil: 1). Aglutinasyon varsa, sonuç negatiftir ve gebelik yoktur. (Şekil: 2) Test bitince, lam horizontal bir yüzey üzerine bırakılabilir ve



Şekil — 1 Aglutinasyon yok Pozitif sonuç, Gebelik var



Şekil — 2 Aglutinasyon var Negatif sonuç, Gebelik yok

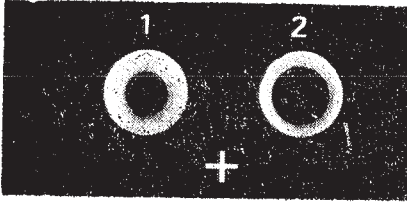
orada 30 dakika süreyle sonucu okumak mümkündür. Daha sonra reaksiyon bozulabilir. Testin yapılması için reaktifler buzdolabından çıkarıldıktan sonra ısıtılmağa lüzum kalmadan hemen kullanılabilir. Lam üzerine konulan sıvının kurumaması için deney süratle yapılır. Günün herhangi saatine ait idrar kullanılabilirse de, sabah idrarı en kesif idrardır ve onunla yapılan tayinler daha hassas olur. Test taze idrarla veya buzdolabında en çok 12 saate kadar bekletilmiş idrarla da yapılabilir. Netice pozitif çıkarsa gebelik kesindir. Netice negatif çıkarsa, bir hafta sonra testi tekrar etmelidir.

NETİCELER

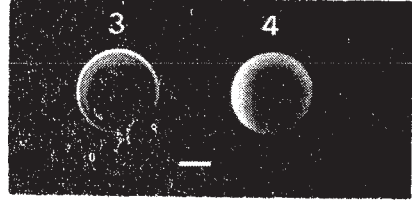
Pregnosticon All - in tüpte yapılan testte, 197 vakadan 94'ün de test (+) müsbet ve 103 vakada ise test (—) menfi bulundu. Müsbet olan vakalardan 12'sinde test Galli Mainini (G. M.) kurbağa testi ile birlikte kontrollu yapıldı. Bunlardan 8'inde her ikisi de müsbet bulundu. 4 vakada ise G. M. menfi, prognosticon müsbet bulundu. Klinik teşhis esas alınarak bu 4 vakada G. M. test neticesi yanlış kabul edildi. Diğer taraftan 29 vakada prognosticon planotest ile deney yapıldı. Bu vakaların 17 sinde test müsbet (+) ve 12 sinde test menfi (—) bulundu. Bunlardan 10 vakada planotest ile beraber G. M. testi de yapıldı. Bunlar içinde 8 vakada netice her ikisinde de aynı bulundu. Fakat 2 vakada G. M. testleri menfi (—) ve planotest müsbet (+) bulundu. Hastaların klinik muayene ve incelenmesinde gebe oldukları tesbit edildi.

TARTIŞMA VE YORUM

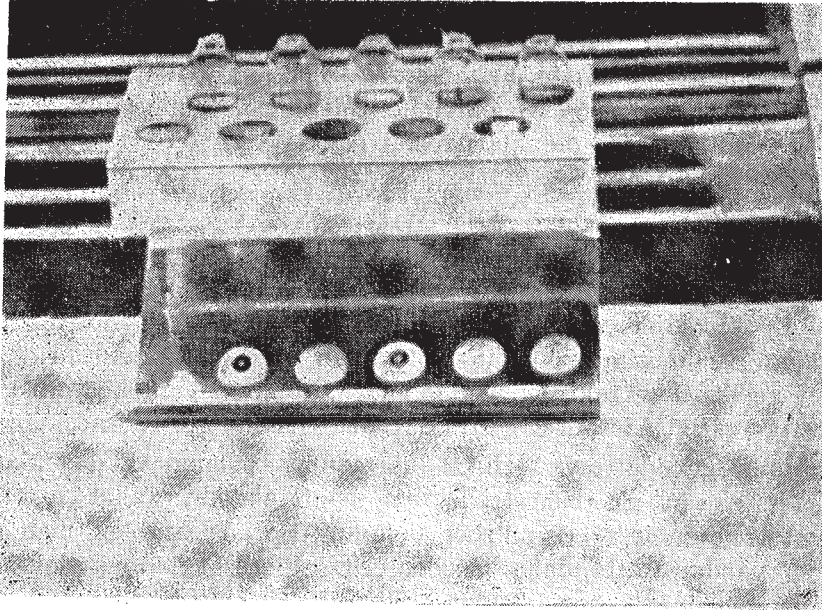
İmmünolojik gebelik testi idrarda koryonik gonadotrop hormonun immünoşimik dozajına dayanan bir gebelik testidir. Test âdet gecikmesini takip eden 8. günden itibaren, yani kadının görmesi gerektiği âdetten 8 gün sora pozitif sonuç verir. Ancak insan koryonik gonadotropin (HCG) hormonu başlangıçta düşükbulunan gebelerde, ilk trimestrede test menfi olabilir. Fakat 2. ve 3. trimestrelerde ise test müsbet bulunur. Burada antigen maddesi, tüpde yapılan testte, daha önceden eritrositlere bağlanmış olan koryonik gonadotrop hormonudur. Eritrositlerin üzerine uygun anti-serumun ilâvesi, immünoşimik bir reaksiyona yol açarak eritrositlerin homojen bir şekilde çökmesini sağlar. Eğer bu vasata serbest antigen de ilâve edilirse, (Meselâ gebe kadın idrarı) eritrositler özel bir şekilde çökerler ve dipte bir halka meydana getirirler. (Pozitif test) (Şekil : 3) Eğer kadının idrarında koryonik gonadotrop hormon yoksa veya çok az miktarda ise, bu taktirde açık kahverenginde ve hudutları olmayan bir teressübat meydana gelir (Negatif test) (Şekil : 4) Ampullerin altına konulan bir ayna, neticenin okunmasını kolaylaştırır. (Şekil : 5)



Şekil — 3 Hudutları belli bir halka teşekkül etmiş pozitif sonuç, gebelik var



Şekil — 4 Hudutları belli bir halka yok, sonuç negatif gebelik yok



Şekil — 5 Deneyden 2 saat sonra testin neticesinin okunuşu : Soldan sağa doğru (+), (—), (+), (—) ve (—) reaksiyonlar kolayca arytidilmektedir.
(Çanga - Orhon - Ilgaz, A. Ü. T. F. Mec. 18 : 57, 1965)

Lam üzerinde yapılan testte ise esas cereyan eden reaksiyon, koryonik gonadotrop hormonla, ona karşı antikorlar arasında olmaktadır. «Latex» şişesinde, HCG emdirilmiş polystyrene partiküllerinin süspansiyonu vardır. «Antiserum» şişesinde ise HCG'ye karşı antikorlar bulunur. Bu iki sıvının muayyen miktarları karıştırıl-

dığında, aglütinasyon husule gelir. Eğer HCG ihtiva eden bir idrar, daha önce antiserumla karıştırılırsa, latex süspansiyonunun ilâvesi aglütinasyon yapmaz. Çünkü antiserumdaki antikorlar, HCG ihtiva eden idrar tarafından nötralize edilmiştir.

İmmünolojik gebelik testi, klinik maksatlar için kantitatif bir dozaj yapılmasını da mümkün kılar. Bunun için tüpte yapılan testler kullanılır. Muayene edilecek olan idrar, damıtık su ile çeşitli nisbetlerde sulandırılır. Halka teşekkülü görülen en yüksek dilüsyon nisbeti, idrardaki koryonik gonadotrop hormon seviyesi hakkında fikir verir. Test o şekilde ayarlanmıştır ki, immünoşimik reaksiyonun hassasiyet eşiği litrede 1500 İ. Ü. Koryonik gonadotrop hormonu gösterecek şekildedir. İdrardaki hormon seviyesi : $x = 1500N$ formülüyle hesaplanır. Burada N, sulandırma nisbeti ve X de idrardaki asgari koryonik gonadotrop hormonu miktarını gösterir. Meselâ 1 kısım idrara 7 kısım su ilâve ederek elde ettiğimiz dilüsyonda $N = 8$ dir. Reaksiyon müsbetse, muayene ettiğimiz idrarda en az $1500 \times 8 = 12.000$ İ. Ü. hormon vardır. Eğer tahlil edilen idrar 24 saatlik ise, 24 saatte itrah edilen koryonik gonadotrop hormon miktarını hesaplamak mümkün olur. Dilüsyon nisbeti $1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512$ şeklinde yapılabilir. Eğer $1/8$ nisbetinde halka yoksa daha küçük dilüsyonlar yapılır; ($1/2, 1/4$) Halka varsa daha büyük dilüsyonlar yapılır. ($1/16, 1/32, 1/64$) Bu metod, biyolojik dozaj metodlarından çok daha hassastır.

KERBER ve arkadaşları (14), gebe ve gebe olmayan hastalarda, değişik isimli 8 İmmünolojik gebelik testi kullanarak mukayeseli bir inceleme yaptılar. Bu yazarlara göre testler arasında hem hassaslık ve hem de HCG den başka diğer faktörlerin tesiri yönünden farklar vardır. Test için ideal bir madde henüz bulunmamıştır. Fakat pregnosticon planotest'de kullanılan madde, bunların iyilerinden biridir. Tüpte yapılan testler ise hassaslık bakımından en iyileridir. Bu konuda son gelişmeleri yansıtan bir yazıda LAMB, (15) 50 gebe ve 50 gebe olmayan kadında yaptığı incelemede 5 değişik immünolojik gebelik testi kullandı. Sonuç olarak yeni geliştirilen antigenler ve antikorlarla yapılan gebelik testlerinin daha elverişli ve hassas olduklarını ortaya koydu.

Bizim yaptığımız deneylerden elde ettiğimiz sonuçlara göre, immünolojik gebelik testleri (Tüpde veya Lamda yapılanlarda) kullanma şekli ve kısa zamanda sonuçlanması bakımından diğer gebelik testlerinden üstündür. Neticelerin doğruluğu, kullanılan test solusyonlarının tazeliğine ve tekniğinin hatasız yapılmasına bağlıdır. Test yapılan vakalarda sonuçlar, klinik teşhisle karşılaştırılarak kesin karara varılabilir. Çok erken gebeliklerde veya HCG hormon seviyesinin düşük olduğu hallerde başlangıçta testler negatif çıkabilir. Böyle durumlarda bir hafta sonra gebelik testini tekrarlamalıdır. Eğer test pozitif ise sonuç kesin olmakla beraber şüpheli vak'alarda testin tekrar edilmesinde fayda vardır. Vak'aların bir kısmında immünolojik gebelik testi, aynı zamanda GM. Kurbağa testi ile birlikte mukayeseli olarak yapıldı. Bunlardan bazılarında GM. Kurbağa testi yanlış netice verdi. Bunun yanında biyolojik gebelik testlerinde kullanılmı deney hayvanlarının ölmesi ihtimali de düşünülürse immünolojik testlerin üstünlüğü bir defa daha ortaya çıkar.

Ö Z E T

Gebe ve gebe olmayan 226 kadından alınan idrarda gebelik tayini için immünolojik gebelik testi yapıldı. Bunlardan 111'i pozitif ve 115'i negatif bulundu. 22 vakada immünolojik test, GM. Kurbağa testi ile birlikte mukayeseli olarak yapıldı. Sonuç olarak immünolojik gebelik testlerinin, deney hayvanına ihtiyaç göstermemesi, kısa zamanda netice alınabilmesi, yapılmasının basit ve kolay olması, doğruluk ve hassasiyetinin daha fazla olması bakımından diğer gebelik testlerinden üstün olduğu kanısına varıldı.

S U M M A R Y

Short Duration Immunological Pregnancy Test

Random urine samples from 226 pregnant and nonpregnant women were tested with immunologic tests for pregnancy. The results of the test were found positive in 111 cases and negative in 115 casls. In 22 cases Immunologic pregnancy tests were performed and compared with GM. frog pregnancy tests. As a result Immunologic pregnancy test which does not quire any animals for test, itgives the results in very short time and, it is simple, easy to

performe, was found more sensitive and more accurate than all other tests for pregnancy,

NOT : Bu çalışmamızda kullandığımız deney materyalini temin eden N. V. Organon ilâç firmasına teşekkür ederiz.

Makale içinde bulunan 1, 2, 3, 4, numaralı resimler N. V. Organon İlâç Firması tarafından mücade ile alınmıştır.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — ASCHEIM, S., and ZONDEK, B.: Klin. Wehnsehr, 7 : 8, 1928
- 2 — ÇANGA, Ş., ORHON, A., ILGAZ, N.: İmmünolojik Esasa Dayanan Gebelik Testi, A. Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası, 18 : 57, 1965
- 3 — FRIEDMAN, M. H. and LAPHAM, M. E.: Am. J. Obst, and Gynec. 21 : 405, 1931
- 4 — GUYTON, A. C.: A Textbook of Medical Physiology, ed. 2 philadelphia, 1961, W. B. Saunders Co. P. 1102.
- 5 — EASTMAN, N. J., HELLMAN, L. M.: Williams Obstetrics, ed. 12, New York, 1961, Appleton - Century - Crofts. I. nc. P. 273.
- 6 — GALLI MAININI, C.: Pregnancy test using male toad, J. Clin. Endocrinol., 7 : 653, 1947
- 7 — GREENHILL, J. P.: Obstetrics, ed. 13, P. 194, W. B. Saunders Co. 1965
- 8 — ILGAZ, N.: Hormonal Activity Test, Acta Medica Turcica 4 : 8. 1967
- 9 — WIDE, L., and GEMZELL, C. A.: An İmmunological pregnancy test, Acta Endocrinol 35 : 261 - 267, 1960
- 10 — Mc KEAN, C. M.: Preparation and of antisera to human chorionic gonadotrophin., Am. J. Obst. and Gynec., 80 : 596 - 600, 1960
- 11 — BRODY, S., and CARLSTRÖM, G.: Estimation of human chorionic gonadotrophin in biological fluids by complement fixation, Lancet, 2 : 99, 1960
- 12 — BRODY, S., and CARLSTROM, G. : Clinical application of a serological method for the determination of human chorionic Gonadotrophin, Nature, 189 : 841 - 842, 1961
- 13 — RAO, S. S., and SHAHANI, S. K.: The anti - genicity of human chorionic gonadotrophin, Immunology, 4 : 1, 1961
- 14 — KERBER, I. J., Inclan, A. P., FOWLER, E. A., DAVIS, K., FISH, S. A : Immunologic Tests for Pregnancy, Obstetrics, Gynecology, 36 : 37, 1970
- 15 — LAMB, E. J : Immunologic Pregnancy Tests, Obstetrics and Gynecology. 39 : 665, 1972

(Mecmuaya geldiği tarih: 7 Kasım 1972)