

Diagnóstico precoz del embarazo estado actual, perspectivas futuras

Dr. Ricardo Rueda González*

1.-INTRODUCCION. El diagnóstico temprano del embarazo es un hecho deseado tanto por el Médico como por la paciente. Al primero le permite la iniciación oportuna de los cuidados prenatales antes de que los signos clínicos se hagan presentes. Le ofrece además la oportunidad de clasificar las pacientes que deseen servicios de planificación familiar (anovulatorios, DIU, etc.) y en los países en donde la interrupción del embarazo es legal practicar el aborto por métodos tan simples como el procedimiento de la "regulación menstrual". Selecciona también aquellas mujeres que necesitan vacunación contra la Rubéola, el empleo de drogas con potencial o comprobado efecto teratogénico y el uso de Rx diagnósticos o radiaciones terapéuticas.

Durante muchos siglos ha existido el interés por el diagnóstico del embarazo en sus etapas tempranas y es así como se conocen registros Egipcios muy antiguos que describen una prueba en la que la mujer tomaba una mezcla de sandía molida y leche del seno de una mujer que había tenido un hijo, y si como resultado de ello, vomitaba, se diagnosticaba embarazo. Según las escrituras hebreas, si los pies de una mujer se hundían profundamente en un terreno suave, se presumía que estaba embarazada.(1)

Hasta hace 50 años el diagnóstico de gestación se basaba únicamente en la presencia de un retraso menstrual y en observaciones subjetivas tales como la turgencia de las venas de los senos, náuseas y vómitos y aumento de la libido. Más avanzada la gestación, se detectaban los signos de presunción y certeza clásicos, pero en el diagnóstico precoz se presentaban frecuentes y grandes errores.

* Profesor Asociado. Facultad de Medicina Colegio Mayor del Rosario. Jefe Servicios Ginecología Hospital Fray Bartolome de las Casas. Bogotá, D.E.

Años más tarde y con base en los conocimientos cada vez más profundos de los mecanismos biológicos e inmunológicos de la reproducción, tanto en la especie humana como en los animales, se han venido desarrollando pruebas que permiten satisfacer la necesidad de un diagnóstico temprano.

2.-BASES BIOLÓGICAS. En las fluctuaciones de la Gonadotropina Coriónica humana GCH— se basan la mayoría de las pruebas para el diagnóstico del embarazo por el laboratorio. Esta gonadotropina es una glucoproteína producida por los tejidos trofobásticos, sin importar si provienen de un embarazo normal, del ovario o de algún sitio extragonadal. Consiste en dos cadenas de polipéptidos unidos a una fracción de carbohidrato con un peso molecular total de aproximadamente 30000. La fracción del polipéptido comprende el 66% del peso molecular, en tanto que el contenido del carbohidrato representa el resto.

Recientemente se ha demostrado que muchas de las hormonas polipéptidas de la placenta y la hipófisis comparten características inmunológicas semejantes, que parecen guardar relación con su configuración. Estas hormonas están constituidas por dos cadenas de polipéptidos, Alfa y Beta, unidas a un carbohidrato. Parece ser que la cadena Beta es la poseedora de la especificidad biológica e inmunológica, lo que ha permitido la creación de técnicas altamente específicas y así poder detectar la GCH en la sangre o en la orina. (2)

En una gestación normal la producción de GCH se inicia 48 horas después de la implantación, alcanza su máximo nivel entre los 50 y los 90 días después del primer día del último período menstrual, para luego caer a un nivel más bajo durante el resto del embarazo y finalmente desaparecer 3 a

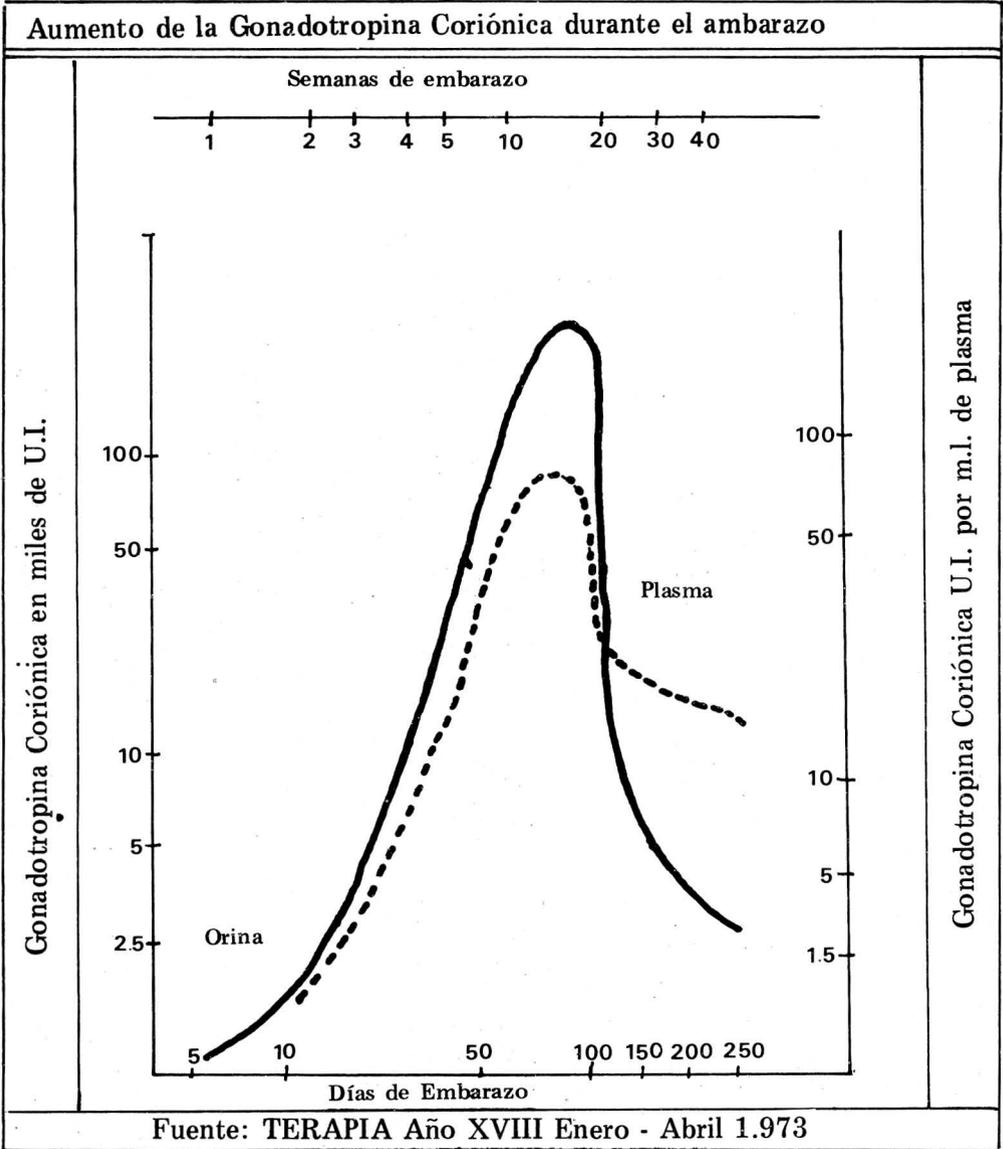
10 días después del parto. (3-4-5). Fig.1.

Pero es interesante recordar que además del embarazo normal, existen otras condiciones que dan origen a la producción de GCH; tumores del trofoblasto, algunos tumores del testículo (seminoma) y del ovario

(disgerminoma), generan cantidades habitualmente altas de la hormona, y en esta forma, su dosificación por alguno de los métodos confiables constituye un valioso auxiliar diagnóstico así como para el seguimiento de los tratamientos. (6)

Orientarán también algunas de estas pruebas en casos de embarazos anormales como

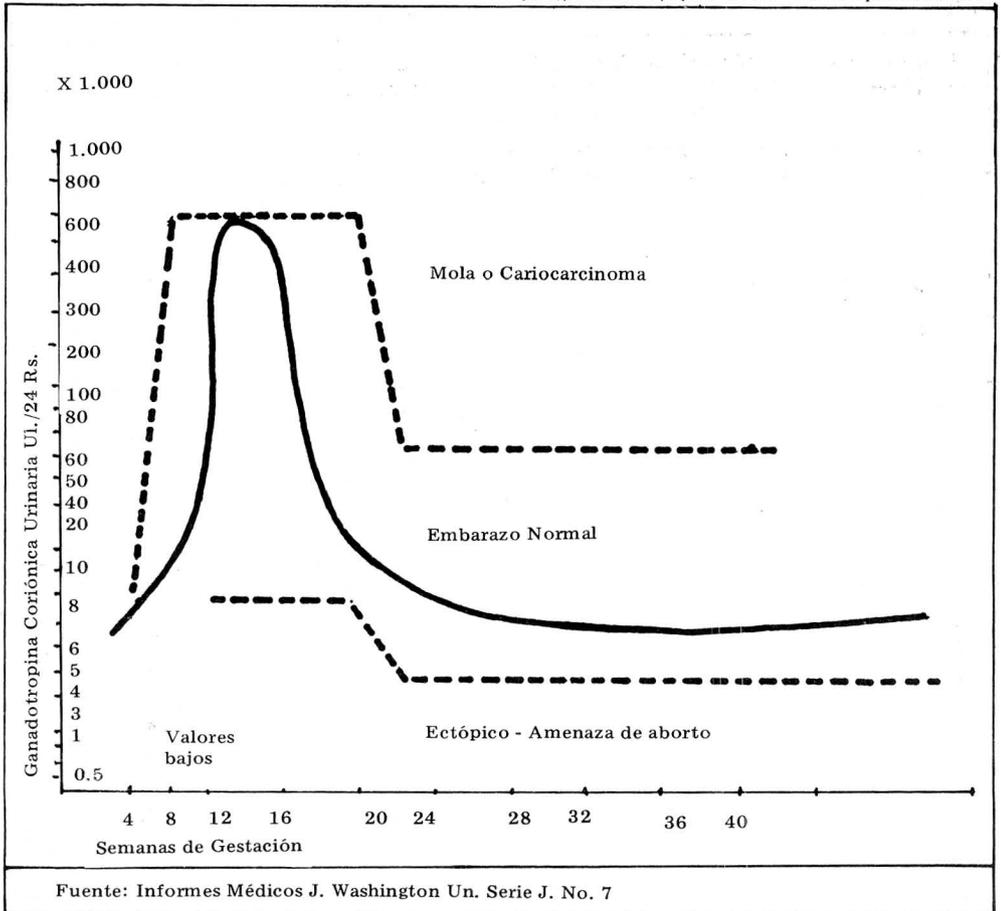
FIGURA 1



el ectópico y las amenazas de aborto, problemas generalmente asociados a niveles bajos de producción de GCH, y así, el diagnosticarlos a tiempo permitirá en el primer caso una intervención quirúrgica oportuna y en el segundo, la utilización de las medidas terapéuticas necesarias para que el embarazo siga un curso normal. Fig. 2.

aumento de los estrógenos se cumpla en la forma anotada, después de la duodécima semana, le quita utilidad a su dosificación como procedimiento para un diagnóstico precóz.

Las células sinciciales también producen progesterona, que es eliminada parcialmen-



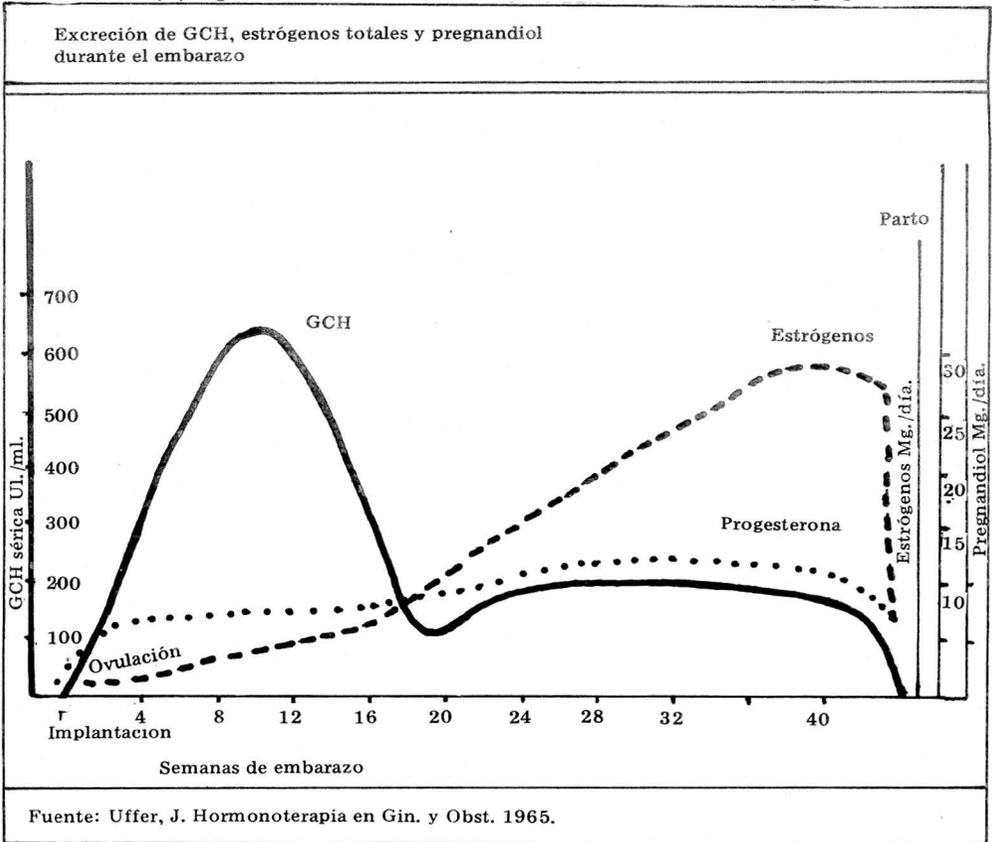
Otras pruebas se basan en la dosificación de estrógenos y progesterona.

Los estrógenos son también producidos por las células placentarias, sus niveles son bajos en el comienzo del embarazo y no aumentan de manera significativa hasta la duodécima semana, cuando sus títulos se elevan rápida y continuamente hasta el momento del parto después del cual descienden rápidamente. Así, el hecho de que el

te por la orina en forma de glucuronato sódico de pregnandiol. En los dos primeros meses de la gestación los valores no son más altos que en la mujer no embarazada; después de este tiempo, se observa un firme y continuo aumento hasta el momento del parto cuando se produce un descenso a niveles bajos. La dosificación del pregnandiol adolece del mismo inconveniente de la de los estrógenos, toda vez que su aumento se hace notorio después de las 8 semanas

cuando ya la GCH ha alcanzado niveles considerables. (7) Fig. 3.

También, como componente principal contiene Cloruro de Sodio, y pequeñas canti-



Pero es de anotar que en algunos trastornos de la gestación tales como la amenaza de aborto, el sufrimiento fetal y algunos otros, sí pueden tener utilidad las dosificaciones de estrógenos y/o progesterona.

El exámen del moco cervical y sus variaciones son un valioso auxiliar para el diagnóstico precóz del embarazo o de lo que es algunas veces más importante, descartarlo.

El moco contiene aproximadamente un 90% de agua, que en la mitad del ciclo menstrual llega a un 95%. Una gran cantidad de agua está unida a una mucina constituyéndose un hidrogel que a su vez es la causa del comportamiento reológico o sea de las variaciones en viscosidad, capacidad de hacer hebra (Spinbarkeit), elasticidad o retracción, plasticidad y adherencia. (8)

dades de potasio, magnesio, calcio, cobre, fosfato y bicarbonato.

De todas las propiedades del moco cervical, la cristalización o arborización, es decir, la capacidad de producir una imagen de helecho, es sin duda una de las más sensibles a los cambios de las hormonas sexuales.

Estas variaciones del comportamiento del moco se emplean ampliamente para precisar la época de ovulación, la valoración del cuerpo lúteo, el diagnóstico temprano del embarazo e incluso la amenaza de aborto. Es también de gran utilidad para vigilar el manejo de drogas inductoras de ovulación y tratamientos con estrógenos y gestágenos.

Pero es de anotar que el fenómeno de la

arborización no es específico del moco cervical, ya que puede observarse en otras secreciones mucoides y soluciones que contengan proteínas y electrolitos, especialmente cloruro de sodio.

La arborización del moco cervical depende naturalmente de la acción del estrógeno y guarda íntima relación con las propiedades reológicas descritas anteriormente.

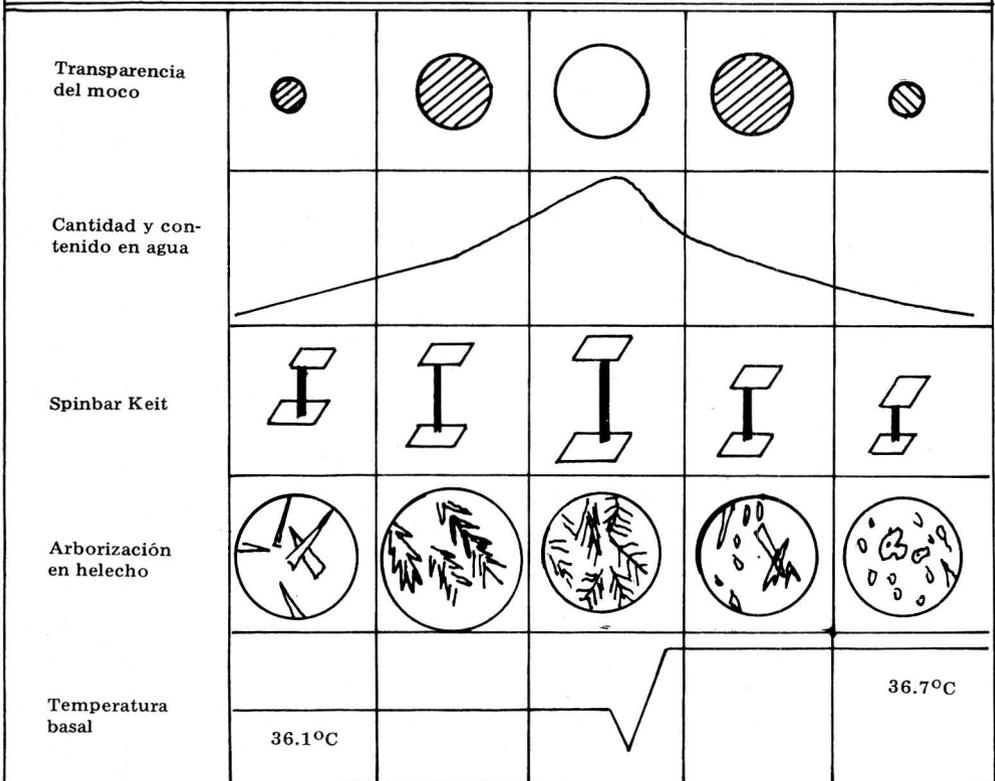
La imagen de helecho aparece al comienzo de la fase proliferativa, habitualmente entre el 5o. y 6o. día de un ciclo bifásico normal de 28 días y aumenta en forma proporcional al grado de actividad estrogénica. Alcanza un máximo y comienza a desaparecer y ser substituída 24 o 72 horas más tarde

por una imagen celular muy característica de la fase progestacional que se observa también en el embarazo, en una fase lútea prolongada por persistencia del cuerpo lúteo y en pacientes a quienes se les ha administrado algún progestágeno. (9) Fig. 4

Estos cambios en la arborización y en su intensidad coinciden con la capacidad que tiene el moco de hacer hebra o "Spinbarkeit" y así, a medida que avanza el ciclo, éste se va haciendo más filante hasta el momento de la ovulación. De allí en adelante, esta filancia disminuye hasta volverse escasa en la fase progestacional y persistir con esta característica si sobreviene el embarazo.

Nos proponemos hacer a continuación un

Cambios del moco cervical durante el ciclo menstrual normal



Fuente: Elstein, M. Cuello Uterino y su moco. Gin. y obst. Temas actuales. Agosto, 1974.

análisis de las pruebas de embarazo empleadas hasta el presente, de los criterios para su manejo e interpretación y algunos comentarios a aquellas que se encuentran en la etapa de investigación y que pueden en el futuro llegar a ocupar un lugar destacado en la práctica corriente.

3.- CLASIFICACION. Para una mejor presentación dividiremos estas pruebas en seis grupos:

- a) Pruebas biológicas o bioensayos.
- b) Pruebas en el moco cervical.
- c) Pruebas de retiro o de deprivación hormonal.
- d) Pruebas inmunológicas o inmunoensayos.
- e) Radioinmunoensayos.
- f) Pruebas en investigación.

A— PRUEBAS BIOLÓGICAS O BIOENSAYOS.- En los bioensayos la medición de la GCH depende de la valoración de la respuesta de los ovarios o los testículos de algunos animales de experimentación tales como ratas, ratones, conejos o sapos, a la gonadotropina.

La primera prueba biológica para la detección del embarazo fue preconizada en 1928 por los ginecólogos alemanes Salmar Ascheim y Bernhardt Zondek, quienes observaron que al inyectar orina de una mujer embarazada a una ratona inmadura, se producía maduración prematura de los folículos ováricos, congestión y hemorragia de éstos (10-11). Después de repetidas inyecciones las ratonas eran sacrificadas a los 4 o 5 días para observar cuidadosamente los ovarios y en esta forma poder establecer si presentaban las transformaciones ováricas descritas.

Posteriormente, en 1932 Friedman y Lapham, reportan que también las conejas eran sensibles a la GCH contenida en la orina de una mujer gestante. La inyección de ésta a conejas blancas causaba también acelerada maduración y hemorragias foliculares, fenómeno apreciable a las 48 horas de producida la inyección, hecho que por simples razones de tiempo dejó a un lado la

prueba ideada por Ascheim y Zondek (10-11).

Las dificultades para mantener grandes colonias de conejas llevaron a los investigadores a la búsqueda de otro animal de prueba fácil de obtener y mantener y fue así como entre los años 1940 y 1950 otras dos pruebas biológicas hicieron su aparición en el mundo científico.

Frank y Berman en 1941 introducen el empleo de ratas blancas inmaduras las que eran inyectadas con sangre u orina de la mujer presuntamente embarazada y sacrificadas para su examen 16 y 24 horas más tarde. La GCH contenida en la orina producía al igual que los ensayos escritos anteriormente gran hiperemia y congestión ovárica (10).

Más tarde, en 1948 Galli-Mainini hace su primera publicación mostrando sus experiencias con el empleo del sapo de la variedad Bufo Arenarum y Wiltberger y Miller trabajando independientemente con la rana Papiens, hacen su aparición en el mundo científico. (12-13).

Inyectando el sapo con sangre u orina que contenga GCH se obtiene la presencia de espermatozoides en la orina de éste y se concluye que hay embarazo y reacción positiva; en el caso contrario, teóricamente el embarazo es descartado.

Esta prueba redujo la cantidad de tiempo de espera para la lectura de varios días a unas pocas horas, con la ventaja de que los mismos animales pueden usarse repetidas veces a que no se requiere de su sacrificio ni de su disección para el análisis y lectura de la reacción.

En estos bioensayos la variedad del batracio empleada tiene alguna importancia en cuanto a los resultados obtenidos. El de tipo Americanus por ejemplo, que predomina en los EE.UU. de América, es susceptible de dar reacciones falsas positivas. La variedad Viridens de común empleo en Alemania no da falsos positivos pero, en el invierno pueden llegar a producir falsos negativos. El British es una variedad de ex-

traordinaria sensibilidad y que en un 60% de las veces permite una lectura a la hora de inyectarlo y sin falsos positivos; los japoneses utilizan el Ishida con una positividad que alcanza al 99.4% siempre y cuando se trabaje con orinas concentradas (14-15-16-17).

Entre nosotros empleamos generalmente las variedades *Arenarum Hansel* y *Marinus*, muy receptivas, de gran sensibilidad, características muy similares a las que se encuentran en la Argentina y el Brasil (18). No son susceptibles de dar falsos positivos, pero sí falsos negativos en condiciones tales como falta de madurez completa (pesos inferior a los 50-70 gms.), cautiverio prolongado o parasitismo intenso; es recomendable además la inyección de tres a cuatro animales por reacción para obtener mayores márgenes de seguridad.

E.- Acosta Lleras en 1954 expuso una prueba en que utiliza suero sanguíneo (0,2 cc) y práctica inyección intracraneana en el macho de la rana *Hyla Labialis*. Obtiene excelente sensibilidad con lecturas positivas entre 45 minutos y tres horas. (20)

Algunos batracios hembras como la variedad *Xenopus Laevis* son también susceptibles de responder a la presencia de GCH, de manera que al ser inyectadas con orina de mujer embarazada, se induce la ovulación. Son menos sensibles que los machos y su lectura es lenta toda vez que se requieren aproximadamente 18 horas. (19).

Si tenemos en cuenta los principios básicos de las fluctuaciones de la GCH comprendemos también que el factor orina tiene también gran importancia y así será mejor utilizar la primera micción matinal y recomendar a la paciente en estudio poca ingestión de líquidos desde la víspera con el fin de obtener una orina de baja densidad y por consiguiente mayor concentración de gonadotropina.

Es de anotar también que cuando se inyectan orinas no tratadas a algunos animales, las sustancias tóxicas presentes en ellas pueden causar una depresión metabólica de

tal magnitud que se obtengan pruebas falsas negativas y aún la muerte del animal. Esta toxicidad habitualmente se debe al exceso de potasio, a la contaminación bacteriana alta o a otras sustancias inespecíficas.

Por esta razón, en algunas circunstancias se deberá hacer uso de métodos de detoxificación mediante diálisis, que elimina el exceso de electrolitos, acidificación en las orinas muy contaminadas por bacterias, detoxificación por alcohol, éter o absorción por kaolín, etc. En otras, se hará también necesario el empleo de técnicas de concentración (precipitación, ultrafiltración, absorción, concentración por kaolín, etc.) especialmente cuando la falla menstrual es muy reciente o cuando se sospeche embarazo ectópico.

SENSIBILIDAD.- Creemos de interés hacer algunos comentarios a las modificaciones que pueden sufrir estos bioensayos con la ingestión de tranquilizantes.

Hodgson y Brilhart en 1959, reportaron pruebas biológicas positivas en hombres y mujeres que habían ingerido tranquilizantes del grupo de las fenotiazinas y sus derivados; los mencionados autores trabajaron con la Rana *Pipiens*. (19) Utilizando el *Bufalo Arenarum* y sobre 45 mujeres y 49 hombres que recibían dosis altas de las mismas drogas, M. Bueno de Cali, Colombia, no obtiene ninguna reacción positiva falsa a pesar de haber concentrado las orinas con kaolín (21). Esto nos hace pensar que los sapos de nuestras regiones tropicales no presentan los inconvenientes de las variedades predominantes y empleadas en otros países especialmente de Norteamérica y Europa, es decir, que ofrecen las condiciones ideales para la prueba del embarazo siempre y cuando los utilicemos en condiciones óptimas de madurez, tiempo de cautiverio, estado sanitario y teniendo en cuenta que al igual que otras variedades usadas en países con estaciones definidas, el frío intenso hace al sapo poco receptivo y por consiguiente lento en reaccionar, detalle que se hace necesario tener en cuenta en ciudades como Bogotá, y otras de tem-

peraturas similares. (23) Claro está que el problema de temperatura puede obviarse con buenas instalaciones de laboratorio que mantengan la temperatura ideal para el animal.

La seguridad diagnóstica de las pruebas biológicas —coneja, rata, sapo— está bien establecida. La coneja y la rata son las más sensibles toda vez que pueden detectar una cantidad mínima de GCH como de la Unidad Internacional por mililitro de orina (23).

Las pruebas en la rana y el sapo son menos sensibles, pero son capaces de detectar de más de 1 a 5 y 75 U.I., de gonadotropina por mililitro y se reportan un 92 a 95% de seguridad si se practican después de 2 a 4 semanas del retraso menstrual. (23), Cuadro 1.

Los bioensayos y especialmente los de la rata y la coneja son de gran valor en la identificación y manejo de la enfermedad trofoblástica, que como es sabido cursa con niveles muy altos de GCH; en cambio su utilidad puede ser dudosa en aquellas entidades que como el embarazo ectópico y la amenaza de aborto, transcurren con niveles muy bajos al punto de que no pueden ser descubiertas con este tipo de pruebas en las cuales, como lo anotamos, detectan de 1 a 5 U.I., por ml., de orina.

VENTAJAS Y DESVENTAJAS. Es innegable que los bioensayos son de comprobada sensibilidad. Sin embargo, son consumidores de tiempo, sapo de 1-5 horas, rata 16-24 horas, coneja 48 horas. Requieren facilidades locativas para mantener colonias de animales en óptimas condiciones ya que de éstas depende en buena parte la adecuada

CUADRO 1

Comparación de las pruebas biológicas					
Animal	Tipo de reacción	Ventajas	Desventajas	Sensibilidad	Varios
Ratona	Cuerpo lútero	Sensible	96 horas Toxicidad Costo	1.5 a 6 U.I. X ml. orina	Requiere personal bien adiestrado
Coneja	Cuerpo lúteo	Sensible	48 horas Toxicidad Costo	1 U.I. X m.l. orina	Requiere personal bien adiestrado
Rata	Hiperemia ovario	Sensible	Exactitud Variable 16-24 horas Toxicidad	0.5 a 1.5 U.L. X ml. orina	Requiere personal bien adiestrado
Sapo	Espermatogénesis	Rapidéz Bajo costo Re-usable	1 a	1 a 5 U.I. x ml. orina	No requiere personal calificado
Rana	Ovulación	Mantenimiento fácil		75 U.I. X ml. orina	Requiere personal calificado

respuesta a la GCH.

Los bioensayos más sensibles, que como ya lo anotamos son los de la rata y la coneja, requieren personal bien adiestrado tanto en la selección de los animales como en el manejo e interpretación de la prueba. En nuestro medio, con excepción de las pruebas de la rana y el sapo, los bioensayos pueden ser costosos tanto en el precio del animal como el de su sostenimiento.

B- PRUEBAS EN EL MOCO CERVICAL.

En 1945 Papanicolaou anotó que el moco cervical tratado con Nitrato de Plata, después de seco, presentaba al observarlo al microscopio una arborización en helecho que se hacía más evidente en el período ovulatorio y que desaparecía en la segunda mitad del ciclo, en el embarazo y en la postmenopausia.

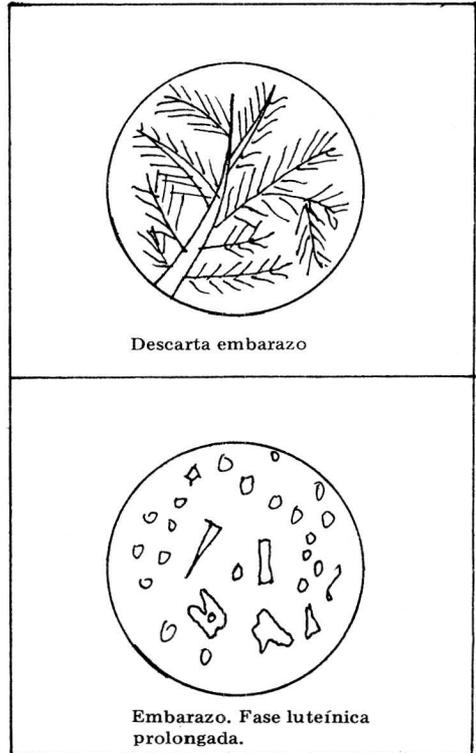
Posteriormente Ridberg y Campos de Paz confirmaban las primeras experiencias y profundizaban más en su estudio, llegando a establecer criterios muy precisos acerca del comportamiento del moco en el ciclo menstrual normal y patológico. Estos autores no trataban el moco con Nitrato de Plata y simplemente como se hace en la actualidad, lo extendían en una lámina, dejándolo secar a la temperatura ambiente o con ayuda de una fuente de calor y lo observaban al microscopio con mediano o gran aumento. (24)

Hasta el momento no se ha establecido una medición precisa de la arborización, si bien se han sugerido algunos criterios semi-cuantitativos con una graduación basada esencialmente en la proporción de cristales observados en el campo microscópico. Pero, para el caso de diagnóstico de embarazo, la intensidad de la arborización no tiene importancia toda vez que ella debe estar ausente para sospecharlo.

CRITERIOS, INTERPRETACION, SENSIBILIDAD.- Ante todo, para una buena prueba se hace necesario realizar una toma de moco en forma tal que no se produzca sangrado del canal endocervical ya que la presencia de sangre daña por completo la

imagen. Una pipeta o una pinza de curación uterina pueden recoger una cantidad adecuada; el extendido en la lámina debe ser homogéneo y delgado, evitando grumos que dificulten la observación al microscopio. El secado se puede acelerar con cualquier fuente de calor.

Después de la primera falla menstrual, época en la cual se plantea habitualmente la necesidad de aclarar si hay o no embarazo, se pueden presentar dos clases de imágenes, una de tipo celular que como ya lo anotamos es propia de fase prostestacional del ciclo normal, prolongación de ésta por persistencia del cuerpo lúteo, embarazo o suministro de progestágenos: otra imagen sería la de una arborización de mayor o menor intensidad que descarta el embarazo, hecho más importante muchas veces. Fig. 5



La sensibilidad del método es buena y nuestra experiencia nos demuestra que hay más posibilidades de falsos positivos (fase

luteínica prolongada) que dé falsos negativos. La sencillez y facilidad para realizarlo, así como su interpretación representa un buen recurso para el médico que en el momento mismo del exámen ginecológico puede aclarar una situación y diseñar una conducta terapéutica.

C-- PRUEBAS DE RETIRO O DEPRIVACION HORMONAL. El empleo de éstas pruebas se basa en los trabajos realizados por Zondek en 1942. El mencionado autor reportó que inyecciones que contenían preparaciones de estrógeno-progesterona eran capaces de producir a los pocos días de aplicadas un sangrado uterino en pacientes con amenorrea funcional. (25)

Estas observaciones hechas en numerosos casos estudiados y seguidos por varios investigadores llevaron al desarrollo de pruebas que usan hormonas sintéticas inyectadas o administradas por la vía oral en un intento de confirmar o descartar el embarazo en mujeres con algún tiempo de retraso menstrual.

En efecto, la mezcla de estrógeno-progesterona, produce transformaciones endometriales clásicas ya conocidas y que conducen al sangrado del endometrio una vez la concentración sanguínea de las hormonas descienda, sangrado que no se producirá en el caso de que un óvulo fecundado se haya implantado.

La seguridad en el diagnóstico precoz de la gestación con este tipo de pruebas ha sido frecuentemente cuestionada y la evidencia sugiere que no son confiables y posiblemente inseguras. Por estas razones no son muy usadas en los países desarrollados en donde fácilmente se dispone de otras más seguras y rápidas. En cambio, en los países en desarrollo continúan siendo ampliamente utilizadas por su bajo costo, poca disponibilidad de otras de más precio y complicadas de conservar en condiciones adecuadas.

La facilidad de efectuarla, su disponibilidad prácticamente popular sin prescripción médica y la creencia de que puedan ser

abortíferas les han dado gran consumo. (26-27).

EFFECTIVIDAD. Teniendo en cuenta que un resultado negativo en una prueba de privación hormonal está basado en la aparición de un sangrado uterino en un período que va desde unos pocos días a dos semanas del suministro de la hormona, es difícil establecer que la hemorragia fue realmente inducida por la prueba y no una menstruación retardada que hubiera ocurrido de todas maneras.

En la práctica diaria, todos hemos podido observar la no aparición de hemorragia uterina en mujeres cuyo posterior y exhaustivo estudio concluye que no hay embarazo aún con el empleo de preparados elaborados por casas farmacéuticas de reconocida seriedad y confiabilidad y con las dosis que normalmente pueden transformar un endometrio.

El único estudio realizado hasta la fecha de manera objetiva y seria es el de Vengadasalam y Col., en Singapur. Este grupo de investigadores practicó el procedimiento de la "regulación menstrual" si la amenorrea persistía una semana después de aplicada la inyección del estrógeno-gestágeno y el estudio histológico del contenido uterino obtenido con la técnica mencionada.

Basados en estas investigaciones encontraron un 19% de falsos positivos, esto es, que la inyección no logró producir el sangrado en 19 de las 95 pacientes cuyo estudio concluyó que no estaban embarazadas (28).

Otro aspecto interesante de comentar lo constituye la posibilidad de que al administrar hormonas del tipo estrógeno-gestágeno por cualquier vía a una mujer con un embarazo temprano, se pueda producir el aborto.

Brotherton y Craft de Londres, en un reciente estudio de aborto espontáneo encontraron que el 7.6% de los casos tenían antecedentes de una prueba hormonal oral para embarazo. (29) Sin embargo estas observaciones aunque muy respetables no pueden concluir que estas sean abortíferas. No so-

bra también anotar su carencia de utilidad en el diagnóstico de tumores trofoblásticos, testiculares y ováricos en donde otras pruebas son un recurso valioso.

El diagnóstico de la gestación mediante las pruebas de retiro, o de privación como ya lo mencionamos anteriormente, goza de mucha popularidad en nuestro medio y en la mayoría de los países en desarrollo ya que son muy fáciles de efectuar. La administración de inyecciones o tabletas no requiere personal adiestrado ni de instalaciones especiales facilitando así su empleo en medios poco recursivos y áreas rurales.

En los EE.UU de América, no se encuentran disponibles desde el año de 1973 cuando fueron retiradas a solicitud de la Oficina de Drogas y Alimentos, que las cuestionó por falta de evidencia en su efectividad, decisión respaldada por el estudio de Vengadasalam, antes citado. (28-30)

Existen además una serie de estudios retrospectivos que sugieren efectos teratogénicos de estas mezclas hormonales cuando se administran durante el período vulnerable del desarrollo fetal. Evidentemente, algunos de éstos indican anomalías congénitas múltiples descritas en genética bajo la eigna VACTEM (vertebral, anal, cardiaco, esofágico, membranal) cuando se hace uso de las pruebas o de anticonceptivos orales en el primer trimestre del embarazo. Los datos reportados, aunque muy autorizados,

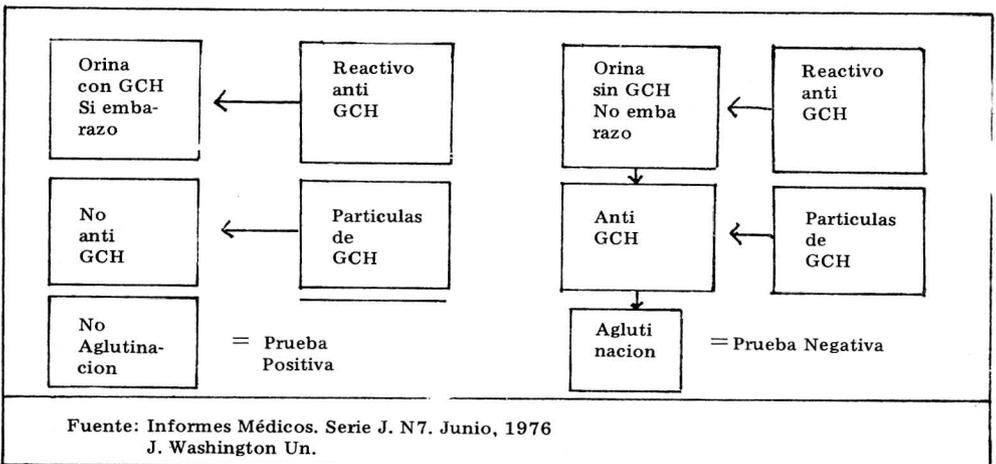
no pueden sin embargo interpretarse como concluyentes, pero sí dignos de tenerse en cuenta y nos indican que se requieren más observaciones para llegar a conclusiones definitivas. (26-31-32-33-34-35-36)

Otras desventajas pueden ser, tanto en mujeres gestantes o no, la eventual presencia de náuseas, vómitos y cefaleas. Además, los resultados no pueden conocerse hasta varios días o semanas después, aumentando así la ansiedad de la paciente y retardando la atención médica de posibles complicaciones de un embarazo que se inicia.

D - PRUEBAS INMONOLOGICAS O INMUNOENSAYOS.- Las pruebas inmunológicas o inmunoensayos para detectar la GCH del embarazo estan ganando cada día mas popularidad y amplia aceptación.

Estuvieron disponibles por primera vez en 1960 cuando Wide y Genzell, Mckean, Brody y Carlstrom reportaron independientemente que pruebas "in vitro" pueden detectar la GCH en muestras de sangre u orina de mujeres embarazadas. (37-38).

Estos inmunoensayos estan basados en la capacidad que tiene la GCH para estimular la producción de anticuerpos. La gonadotropina extraída de sangre u orina de mujer gestante inyectada a animales de laboratorio origina la producción de anticuerpos que pueden extraerse y que son capaces de neutralizar la GCH de la mujer. Fig. 6

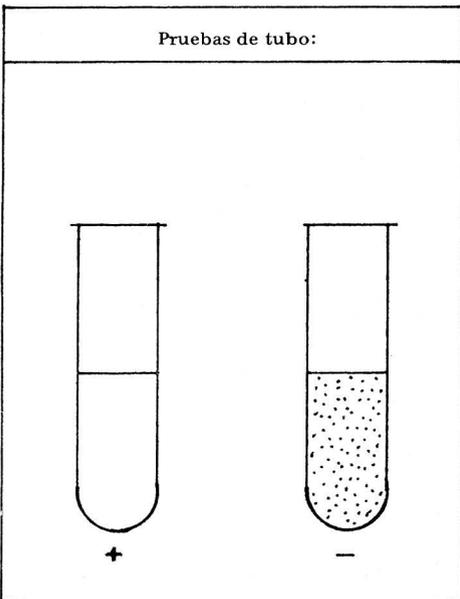


Para comodidad en la comprensión, dividiremos éstas pruebas en dos categorías: las que se realizan en tubos, (pruebas de tubo) y las que se practican en porta-objetos (pruebas de porta-objeto). A su vez las segundas tienen dos modalidades, directa e indirecta.

A - PRUEBAS DE TUBO.- Las pruebas de tubo hasta el momento disponibles en la práctica corriente se basan en los principios de inhibición de la aglutinación, pero difieren en las partículas usadas como portadoras de la GCH (látex o glóbulos rojos de cordero).

En las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación se mezcla orina en un tubo con el anticuerpo de GCH; en seguida se añaden glóbulos rojos de cordero sensibilizados con GCH y se espera por un período de dos horas. Si la orina contiene una cantidad suficiente de gonadotropina como para neutralizar el anticuerpo, no se presentará la aglutinación y la prueba podrá rotularse como positiva, o presumible de embarazo. En ausencia de la gonadotropina, el anticuerpo reaccionará con los glóbulos rojos cubiertos con GCH y ocurrirá una aglutinación, interpretándose como negativa.

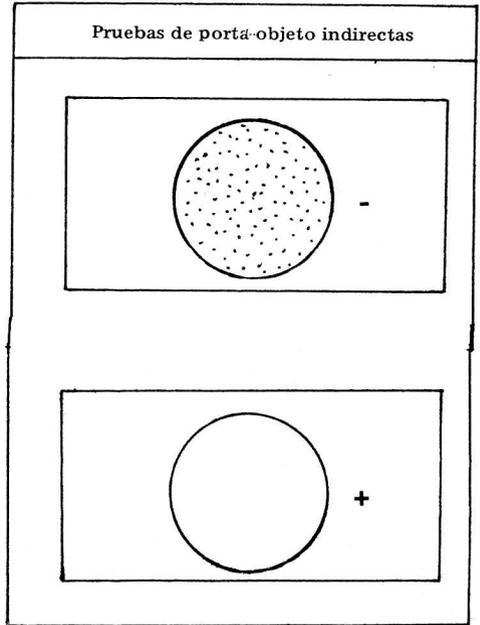
Fig. 7



Los inmunoensayos de este tipo disponibles en muchas partes del mundo se conocen con los nombres de Pregnosticon Tube (Organon). Acuspheres Pregnosticon (Organon). UCG Tube (Wampole Laboratories) y el UCG Lypotest Tube (Wampole Laboratories)

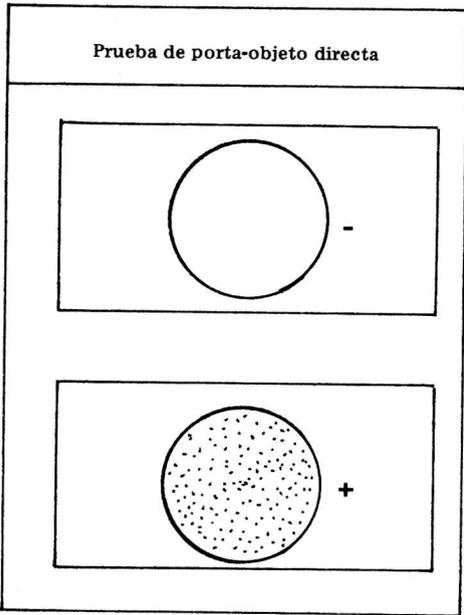
B - PRUEBAS DE PORTA OBJETO.- En las pruebas de porta-objeto de inhibición de la aglutinación, se usan en lugar de glóbulos rojos de cordero, partículas de látex sensibilizadas con GCH.

Unas pocas gotas de orina se colocan y se mezclan con un anticuerpo en un porta-objeto al cual se agregan las partículas de látex. Después de imprimir unos suaves movimientos que favorezcan la mezcla, los resultados pueden leerse después de 1 a 3 minutos. La aglutinación fácil de apreciarse con una buena iluminación y a simple vista, indican la ausencia de GCH necesaria para neutralizar el anticuerpo y por consiguiente una prueba negativa. La falta de aglutinación revela que el nivel de GCH es lo suficientemente representativo como para presumir embarazo. Por esta razón se les denomina indirectas. Fig. 8.



Se encuentran en la actualidad un número apreciable de estas pruebas en el comercio y entre ellas: Gravindex Slide (Ortho). Pregna-Chek (Hysland). Pregnosis Slide (Roche). Pregnosticon Slide (Organon) y UCG Slide (Wampole).

En las pruebas de aglutinación "directas" el anti-GCH es absorbido directamente sobre las partículas de látex en forma tal que la GCH en muestras de orina o sangre producirá aglutinación, es decir, que está indicando una prueba positiva y por lo tanto sugestiva de embarazo. Fig. 9



Hasta ahora se encuentran a disposición las denominadas DAP de Wampole Laboratories y Pregnancy Test de General Diagnosis (Warner-Lambert).

SENSIBILIDAD Creemos de interés anotar, que al igual que en las pruebas biológicas el "factor orina" tiene gran importancia. A mayor concentración de ésta, mejores posibilidades de obtener resultados confiables y es por ello que se hace necesario insistir a las pacientes en la disminución de la ingestión de líquidos desde la víspera. Una reacción falsa negativa puede deberse a una orina muy diluída y por consiguiente

con concentraciones poco adecuadas de GCH.

Si la calidad de la orina es buena, expresada en términos de baja densidad y el inmunoensayo se realiza con una a dos semanas del retraso menstrual, vemos como comparaciones y evaluaciones nos demuestran que las pruebas inmunológicas son tan confiables en el diagnóstico precóz del embarazo como los bioensayos mas sensibles. (39-40-41)

Es de todos aceptado y comprobado que generalmente las "pruebas de tubo" son capaces de detectar concentraciones muy bajas de GCH, más bajas que las de "porta-objeto", siendo por lo tanto mas sensibles. En términos generales, ambos bioensayos son capaces de detectar la gonadotropina aún en especímenes de orina que contengan sustancias interferentes tales como algunas drogas y cantidades altas de proteínas (albuminuria).

Muchas investigaciones han demostrado que las "pruebas de tubo" corrientemente empleadas, si se practican en buenas condiciones expresadas en adecuada conservación de los reactivos y concentración de orina, son capaces de detectar niveles de 0.75 a 1.0 U.I. por mililitro de orina y por lo tanto permiten diagnosticar una gestación entre los 4 y los 8 días de retraso menstrual: si se llevan a cabo con anterioridad al 8o. día, su capacidad disminuye al 77% (41)

Las pruebas de "porta-objeto" son también de buena sensibilidad aunque en menor grado que las anteriores, llegando a detectar cantidades de GCH entre 1 y 5 U.I. por mililitro de orina y su confiabilidad es aceptable de la segunda semana de retraso menstrual en adelante (42)

Pero a pesar de la buena capacidad para detectar cantidades bajas de GCH, ninguna de las pruebas inmunológicas disponibles hasta ahora en la práctica corriente, tienen capacidad para detectar embarazos muy tempranos (menos de 4 días de retraso menstrual) o ectópicos, así como tampoco tie-

nen utilidad como ayuda diagnóstica y pronóstica en la amenaza de aborto (43)

En cambio, para la identificación y seguimiento de la enfermedad trofoblástica estos inmunoensayos ofrecen gran utilidad. En efecto, tanto las pruebas "de tubo" como las de "porta-objeto" pueden cuantificar la concentración de GCH mediante diluciones de orina. La marca comercial denominada UCG Test (Wampole Laboratories) está especialmente diseñada para realizar pruebas cuantitativas e incluye tu-

bos y diluentes con éste propósito, en forma tal, que nos demuestra muy claramente la cantidad de gonadotropina en unidades internacionales (44-45)

Con el fin de reducir los costos de estos ensayos, Kosasih y Tann de Indonesia, han montado unas técnicas que reducen la cantidad de reactivos a una quinta parte de la original y las han denominado los "micro-métodos". Sus trabajos reportan un 2.9% menos de confiabilidad toda vez que aumentan los riesgos de error técnico en la

Comparación de sensibilidad, tiempo para lectura y estabilidad en refrigerador de pruebas inmunológicas

Tipo de prueba	Sensibilidad*	Tiempo	Estabilidad
Pruebas de tubo			
Prefnosticon Acusphers	750	2 horas	1 año
Pregnosticon Tube	750	2 horas	1 año
Placentex	1.000	90 minutos	1 año. Lugar seco
UCG Lyptest Tube	1.000	2 horas	1 año. Lugar seco
UCG Test	1.000	2 horas	18 meses
Pruebas porta-objeto:			
Pregnosticon Dri-Dot slide	1.500	2 minutos	2 años. Temp. ambiente
Pregnosticon Slide		2 minutos	1 año
Pregnosis Slide	1.500	2 minutos	1 año
UCG Slide	2.000	2 minutos	1 año
DAP Test-Macro	2.000	1 minutos	1 año
Gest-State	3.000	2 minutos	1 año
Gravidex Slide	3.500	2 minutos	1 año

* Unidades Internacionales por litro de orina

Fuente: The Medical letter on Drug and Therapeutics. Jan. 1975

preparación de los reactivos y también por la necesidad imperiosa de tener que interpretarlos con ayuda del microscopio.(46)

VENTAJAS Y DESVENTAJAS Con excepción del UCH Tube Lypotest, que contiene substancias reactivas congeladas secas que pueden almacenarse en lugares frescos y secos y del Pregnosticon Dri-Dot Slide, todos los inmunoensayos disponibles hasta el momento requieren refrigeración para su almacenamiento, lo que puede ser una desventaja en los países en desarrollo, especialmente en poblaciones de pocos recursos y en el área rural.

En relación con los costos, si bien no son bajos, exigen al laboratorio de tener instalaciones especiales para mantener colonias de animales en buenas condiciones.

Otra ventaja de los inmunoensayos está constituida por su buena sensibilidad ya comentada, y el poco tiempo requerido para su lectura entre 1 y 2 minutos para las de "porta-objeto" y 90 minutos a 2 horas para las de "tubo". Cuadro 2

En nuestro medio, carente muchas veces de recursos tan elementales como la refrigeración, creemos que pueda llegar a tener un lugar destacado la ya mencionada prueba de "porta-objeto" denominada Pregnosticon Dri-Dot Slide (Organon) con una gran sensibilidad a la temperatura normal por lo menos durante 18 meses y cuyos reactivos están incorporados en un porta-objeto de cartón desechable y empacado en papel de aluminio, hecho que facilita sobremanera la realización de la prueba y elimina el error técnico de la inadecuada mezcla de reactivos.

Facilidades de transporte, almacenamiento y fácil manejo por personal con un mínimo entrenamiento la hacen teóricamente excelente en los medios de pocos recursos y en el área rural. (47)

E - RADIOINMUNOENSAYOS. En los últimos ocho años se ha progresado en forma notable en las mediciones de GCH por medio de radioinmunovaloraciones, pruebas

muy sensibles, específicas y cuantificables, en las cuales se puede utilizar como material de estudio el suero, sanguíneo, el plasma o la orina.

Estos radioinmunoensayos detectan niveles extremadamente bajos de la gonadotropina y son por lo tanto capaces de diagnosticar embarazos con anterioridad a la primera falla menstrual. Fig. 10

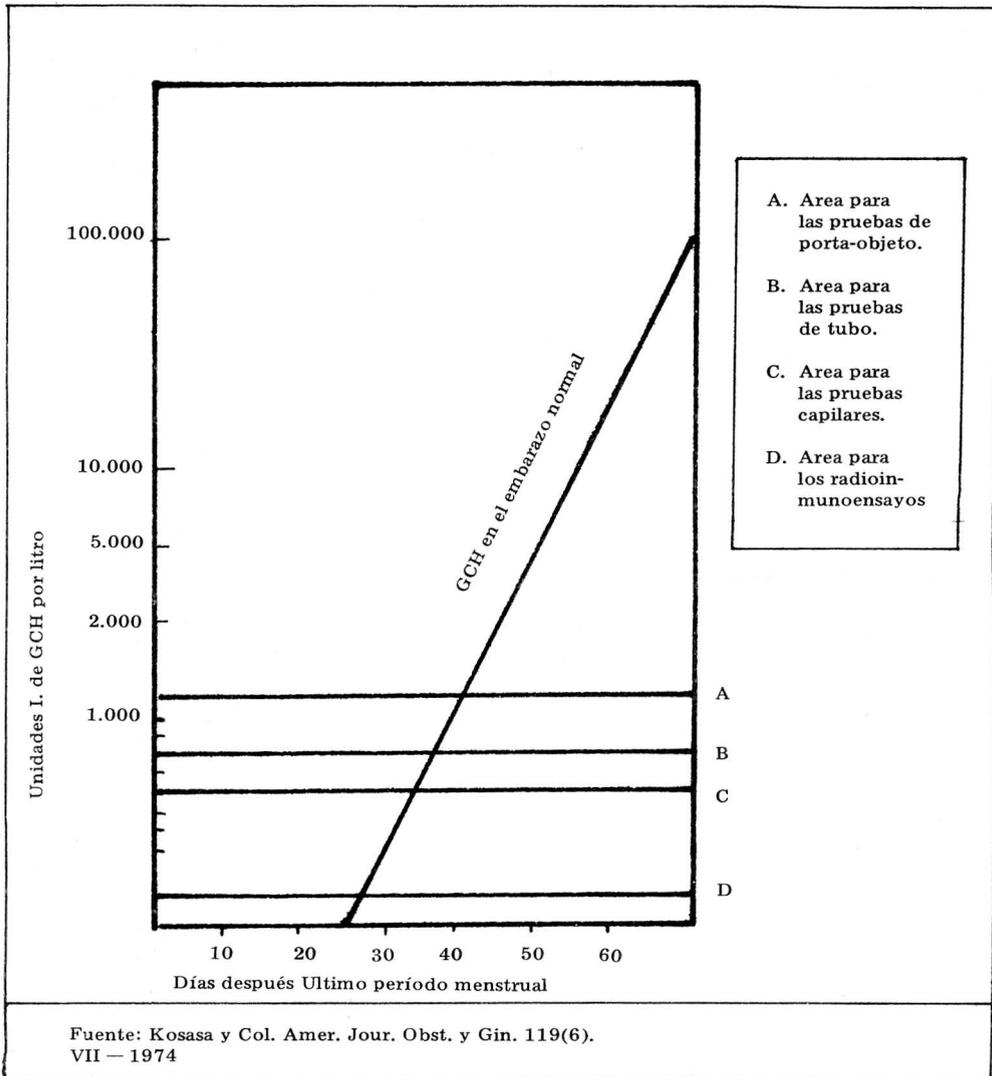
Hasta el presente se han montado dos métodos de esta naturaleza, uno que utiliza un anticuerpo contra toda la molécula de GCH y otro que emplea un anticuerpo que va dirigido únicamente hacia la sub-unidad beta de las moléculas de la gonadotropina (48-49)

La molécula de la GCH contiene sub-unidades alfa y beta. Las alfa son similares a las de otras gonadotropinas, pero las beta son diferentes y aparentemente le dan a éstas hormonas, características de individualidad.(50)

Debido a la similitud de las sub-unidades alfa, la GCH puede reaccionar en forma cruzada con la hormona luteinizante - HL - a niveles muy bajos de actividad en forma tal, que si se utilizan antes de la primera falla menstrual, cuando la cifra de HL es aún alta, puede producir reacciones falsas positivas. (50) Si las pruebas se realizan inmediatamente después del retraso menstrual es muy posible que se elimine la interferencia por reacción cruzada GCH-HL.

RADIOINMUNOENSAYOS DE LA ACTIVIDAD GCH-HL.- Las primeras pruebas de esta naturaleza requerían un periodo de incubación de 24 a 120 horas. Mas tarde, en 1972, Goldstein y Col, reportaron trabajos en los que desarrollaron un inmunoensayo que puede lograrse en solo 5 horas y capaz de detectar la GCH antes de la primera falla menstrual, seis a ocho días después de la implantación. (51)

Con ésta técnica se han hecho investigaciones clínicas para descubrir embarazos inmediatamente después de su implantación, en pacientes sometidas a tratamientos con



hormonas y otros agentes inductores de ovulación tales como Gonadotropina Menopáusica Humana - GMH- y Citrato de Climifén. Así mismo se han utilizado en casos de sospecha de embarazos ectópicos y en el diagnóstico y seguimiento de tumores del trofoblasto. (52)

RADIOINMUNOENSAYOS DE LA SUB-UNIDAD BETA DE LA GCH Teniendo en cuenta que las sub-unidades beta de la GCH y la HL son diferentes, los ensayos dirigidos solamente a la sub-unidad beta de la

GCH pueden medir selectivamente esta gonadotropina en presencia de HL.

Vaitukaitis y Col. del Instituto Nacional de Salud de los EE.UU. de América y Kosasa de la Universidad de Harvard (50-53), aportaron un excelente avance en la investigación, usando antisueros específicos de la sub-unidad beta de la GCH, reportando que se requieren 36 horas para poder dar lectura al procedimiento y eliminando totalmente la posibilidad de falsos positivos debidos a la reacción cruzada GCH HL a ni-

veles bajos y en los comienzos del embarazo.

Con este método se han detectado gestaciones tan tempranas como nueve días después de que haya ocurrido la ovulación; también ha sido indiscutible su utilidad en el diagnóstico de posibles embarazos ectópicos. En el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de la enfermedad trofoblástica así como de tumores productores de GCH, estos ensayos están también a la orden del día constituyéndose en una nueva y utilísima herramienta. (54)

El empleo rutinario de estos métodos de valoración hormonal, aún en los países industrializados, adolece de algunos defectos tales como su alto costo, necesidad de equipos sofisticados y de personal de alta calificación académica y con muy buen adiestramiento en su manejo e interpretación. Por estos motivos, las radioinmunovaloraciones se están dirigiendo especialmente a la investigación en los embarazos patológicos y tumores en donde se requieren cuantificaciones muy precisas.

En los países en desarrollo estamos lejos de contar con este recursos en forma rutinaria, por las razones antes mencionadas y aún en los casos de patología de la gestación muchas veces tenemos que conformarnos con otras técnicas menos costosas y más sencillas.

F - PRUEBAS EN INVESTIGACION

Un grupo muy representativo de investigadores se encuentra trabajando activamente en la búsqueda de métodos rápidos, confiables, sencillos y de costos aceptables, que pueden ser realizados en cualquier lugar y en esta forma facilitar a los médicos y pacientes de muchos lugares el poder diagnosticar la gestación en sus etapas iniciales.

Un importante equipo de estudio de la Universidad de Johns Hopkins en los EE.UU. de América, está trabajando en un método que será aceptable hasta en las áreas rurales que carecen de recursos adecuados de almacenamiento y refrigera-

ción y que pueda efectuar el personal paramédico. Así el Dr. Lorrin Lau basado en los métodos de inhibición de la aglutinación para detección de GCH, ideó un sistema en que se utiliza un tubo capilar que contiene reactivos congelados, secos y premedidos. Los resultados preliminares indican haber detectado niveles de GCH tan bajos como 0.5 IU por mililitro, comparado con 0.7 y más de otros inmunosayos. (55)

El objetivo de las investigaciones con esta prueba inmunológica es el de facilitar su uso en los países en desarrollo; en efecto, el tubo capilar es de por sí un estuche completo para prueba de embarazo. Los reactivos congelados secos están dentro del tubo y son reconstituídos mediante la adición de orina y al ser agitado suavemente durante tres o cinco minutos se está en condiciones de hacer la lectura. El hecho de que los reactivos estén diseñados para permanecer estables a la temperatura normal, no requerir por lo tanto refrigeración y tener una gran sensibilidad, ofrece invaluable ventajas para su popularización.

Otro grupo de estudio está representado por el del Centro Médico de la Universidad de Cornell en los EE. UU. de América, con Sexena y Landerman a la cabeza, quienes han ideado una prueba de radioinmunoensayo denominada "Ensayo de Radioreceptor" en el cual la GCH marcada con un isótopo radioactivo se hace reaccionar con receptores de GCH de membranas de ovarios de vacas embarazadas. Cuando se mezcla esta preparación con plasma de una mujer, cualquier GCH combinada con la substancia radioactiva ya incluida en ella, la reducción de la radioactividad resultante puede usarse como una medida de la gonadotropina en la sangre u orina de la mujer. (56)

Esta prueba de Ensayo Radioreceptor puede leerse en una hora y hasta el presente se ha reportado un 100% de seguridad en el diagnóstico del embarazo al tiempo de la primera falla menstrual y se acepta que puede detectar GCH tan temprano como seis días después de la ovulación. (57)

Tiene además la ventaja de ser más rápida que otras inmunovaloraciones y por ello con un mayor potencial diagnóstico en casos de sospechas de embarazos ectópicos y tumores trofoblásticos cuando se hace necesario implementar una conducta terapéutica muy precisa y rápida.

Junto a estas ventajas encontramos que su alto costo y necesidad de personal muy bien adiestrado en su manejo e interpretación le resta utilidad en muchos lugares. De todas maneras es digno de tenerse en cuenta para el futuro.

RESUMEN

Se ponen en consideración las pruebas de laboratorio para el diagnóstico del embarazo, haciendo énfasis en la importancia que tiene el hacerlo precozmente.

Se hace una breve reseña histórica y una presentación de las bases biológicas que existen para establecerlas y comprenderlas, así como un análisis de cada una de ellas desde el punto de vista práctico, su aplicabilidad en nuestro medio, su sensibilidad, como también su interpretación y causas de error.

Finalmente, se presentan las pruebas que a nuestro juicio están próximas a pasar de la etapa de investigación a la práctica corriente.

EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS

SUMMARY

Laboratory pregnancy tests are considered, emphasizing the importance of an early diagnosis.

A brief historical account is made as well as a presentation of biological basis to determine and understand such tests, an analysis of each one from the practical point of view, its application in our environment, its sensitivity, the interpretation and the causes for mistakes.

Finally prove is mentioned of those that in

our judgement are passing from the research stage to the current practice in the near future.

BIBLIOGRAFIA

1. Hardwik, D.F., Brent, R., Bruke, M.D., Cohen, H., Falkowski et al Early Diagnosis of pregnancy; an invitational symposium. *Journal of Reproductive Medicine*. 12 (1): 1-25 Jan. 1974.
2. Goldstein. D.P. Medición de hormonas en los tumores coriónicos. En: *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas*. XII. 1975. P. 42
3. Hytten, E. and Lind, T. Diagnostic indices in pregnancy. Basel CIBA GEIGY, 1973. P. 63-76.
4. Lau, H.L. Testing for pregnancy. En: Race, G. *Practice of Medicine*. Vol. II 1975. Cap. 29. P. 13.
5. Mayo, R.W. and Trompson, R.B. Comparison of pregnancy tests. *Obst. an Gynec*. 25 (5): 699-704, May, 1965.
6. Rueda, R. Tumores del ovario. Resumen guía de la conferencia. Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario. Facultad de Medicina. Mimeo. 1976.
7. Utter, J. Hormonoterapia en Ginecología y Obstetricia. 3a. Ed. 1972 Editorial Alambra S. A.
8. Elstein, M., Mitchell, R.F. and Sysett, J.T. Ultrastructure of Cervical mucus. *Jour. of Obst. and Gynec. of the British Commonwealth*. 78,180., 1971.
9. Elstein, M. El cuello uterino y su moco. En: *Ginecología y Obstetricia. Temas Actuales*. Pp. 347-355. Agosto 1974.
10. Cabrera, H.A. Comparative evaluation of pregnancy tests. *Am. Jor. of Obst. and Gyn.* 103 (1): 32-38. Jan. 1969.
11. Dorlands. *Illusted Medical Dictionary*. 24th Edition W.B. Saunders. 1965. p 1518-1562.
12. Galli-Mainini, C. Pregnancy test using the male batriachia. *J.A.M.A.* 138: (121-126). 1948.
13. Tietz, N.W. Comparative study of immunologic an biologic pregnancy test in early pregnancy. *Obst. and Gynec*. 25 (2): 197-200. II-1965.
14. Hon E.H. and MORRIS. Furter experience with the toad method of test ing Chorionic gonadotropin in normal disturbed preg-

- nancy. *Jor. Cl. Med.* 16/10. (1354-1363) 1956.
15. Eieninger: Univ. Frauenk. The Galli-Mainini test in a native toad. *Excerpta Med. Obst. Gynec. Bol.* 7, 136 9, 1961.
 16. Frazer, J.F.D. The one hour pregnancy test using male British toad-Jo. *Obst. Gyn. of Brt. Emp.* 64/6 (833-886). 1957.
 17. Nishijina Aya Ishida. Clinical Studies of the male frog pregnancy test. *Unive. Tottori, Japan. Excerpta Me. Obst. Gyn. Vol.II/8* 1238, 1958.
 18. Angel, G. Estado actual de la reacción de Galli-Mainini. *Rev. Col.- de Obst. y Ginec.* Vol. XVI, No. 4. Julio-Agosto, 1965.
 19. Rueda, Eduardo. Comunicación personal.
 20. Acosta Lleras, E. Una técnica para la investigación de Gonadotropinas Corionicas en el diagnóstico precóz del embarazo. *Ed. Minerva-Bogotá*, 1954.
 - 20A. Billarhat, J.R. TRanquilizer interference in the *Rana pipiens* chorionic gonadotropin test. *Jor. Obst. Gyn.* 14/15 (581-587). 1959
 21. Bueno, Miguel. Tranquilizing drugs an pregnancy test in male batrachia. *Science* 135: (925-926), 1962.
 22. Op. Cit. Ref. No. 18.
 23. Sinykin, M. and Horwitz, C.A. Laboratory Medicine pregnancy test. *Minnesota Medicine.* 53: 311-314. March 1970.
 24. Campos de Paz, A. "Valor de la prueba de cristalización en el diagnóstico y tratamiento de la esterilidad cervical". En: Arenas, Betionitti - Murray. *Esterilidad Conyugal.* Edt. Bibliográfica Argentina. 1956.
 25. Zondek, B. Simplified hormonal treatment of amenorrea. *Jor. of American Medical Association.* 118 (1): 705-708. February 1942.
 26. Gal, I. Risks and benefist of the use of hormonal pregnancy tablets. *Nature* 240-242. November, 1972.
 27. Rajawatana, D. and Koetsawang, S. The use of oral contraceptives as hormonal-withdrawal pregnancy test. *Jour. of the medical Association of Thailand.* 55(9): 533-536. Sept. 1972.
 28. Venvadasalam, D., Lecur, T.H., Ke. E., Berger, G.S., Miller, E.R. Estrogen-progesterone "withdraval bleeding" in diagnosis of pregnancy. Chapel hil, North Carolina. International fertility Research program. 1975 (Menstrual regulation series No. 24) p. 11.
 29. Brotheron, Y., and Craft, I.L. A clinical and pathologic survey of 91 cases of spontaneous abortion. *Fertility and Sterility.* 23(4): 289-294. April 1972.
 30. Unites States. Food and drug administration. Medroxiprogesterone acetate: progesterone: dydrogesterone: noretindrone acetate: dihydrogesterone, and hidroxiprogesterone caproate. *Federal Register.* 38 (195). October 10 1973.
 31. Anónimo. Do you have any reports of birth defects or other adverse efects associated with the use of oral contraceptives or other sex hormones preparations during pregnancy. *New York State Jor. of Med.* 74 (3): 535. March, 1974.
 32. Gal, I., Kirman, B., Tren, J. Hormonal pregnancy tests and congenital malformations. *Nature.* 216:83. October 7, 1967.
 33. Harlaps, S., Prywrs, R., Davies, AM. Birth defects and estrogens an progesterones in pregnancy. *Lancet* 1 (7908): 682-683, March 22 1975.
 34. Nora, J.J. and Nora, A.H. Birth defects and oral contraception. *Lancet* 1 (7809): 94-942. April 28, 1973.
 35. Nora J.J. and Nora A.H. Oral contraceptives and birth defects: preliminary evidence for a posible association. *Pediatric research.* 7 (4): 321. 1973.
 36. Okaley, G.P. and Flynt, J.W. Hormonal pregnancy tests an congenital malformations. *Lancet* 2 (7823): 256-257- August 4, 1973.
 37. Alami S.Y. Immunological tests for the diagnosis of pregnancy with special reference to a rapid simple slide tests. *Jour. of the Oklahoma State Medical Association,* March 1966. pp 116-123.
 38. Driscoll, S.G. Stauss, W.E., Alba M., Altachul H.S., Hager H.J. Evaluation of a new slide test for pregnancy. *American Jour. of-Obst. and Gynec.* 110(8): 1083-1090. August 1971.
 39. Fitzgerald. T.C. Comparation of five immunological tests for pregnancy. *Jour. Of American Technologists.* 34(5): 425-431 Sept-Octub. 1972.
 40. Kerber, I.J., Inclan, A.P., Flower, E.A., Davis, K., Fisch, S.A. Immunologic tests for pregnancy. *Obst. and Gynec.* 36(1): 37-43. July. 1970.
 41. Tietz, N.W., Coparative Study of immunolo-

- gical tests in early pregnancy. *Weter Journal of Sur. Obst. and Gynec.* 72: 92-97. March Apri, 1974.
42. Edelman, D.A., Brenner, W.E., Davis, G.L. R., Child, P. An evaluation of the Pregnosticon Dri-Drot test in early pregnancy. *Amer-Jour. Obst. and Gynec.* 119(4): 521-524. June 15, 1974.
 43. Anónimo. Pregnancy detected after single missed period by HCG test Obst. and Gynec. *News* 10(14): 9, July 15, 1975.
 44. Spadoni, L.R., Horts, H., Bry, R.E., Hermann, W.L. Urinary Chorionic Gonadotripin (HCG) in normal and abnormal pregnancies. *Obst. and Gynec.* 28(6) 830-835. December, 1966.
 45. Noto, T.A., Miale, J.B., Riekers, H. Quantitation of human chorionic gonadotropin in urine using the slide immunologic test for pregnancy. *Amer. Jour. of Obst. Gynec.* 90 (7): 859-886.
 46. Kosashih, E.N. and Tann, G. Modification of the Pregnosticon Planotest (micromethod). In: Hudono. S.T. and Saifuddin, A. B. Eds., *Fifth Asian Congres of Obstetrics and Gynecology.* Djakarta, Indonesia, October 8-15, 1971.
 47. Universidad George Washington. Pruebas de Embarazo. Su estado actual. *Informes Médicos. Serie J., No. 7 Junio 1976.*
 48. Kosasa, T.S., Levesque, L.A., Goldstein, D. P., Taymur, M.L. Early detection of implantation using a radioimmunoassay specific for HCG. *Jour. of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 36: 622-624. March, 1973.
 49. Kosasa, T.S., Taymur, M.L., Goldstein, D.P., Levesque, L.A. Use of a Radioimmunoassay in the diagnosis of early ectopic pregnancy. *Obstretic and Gynecology.* 42(6): 868-871. December 1973.
 50. Vaitukatis, I.L., Braunstein, G.D., Ross, G.I. A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinizing hormone. *American Jour. of Obst. and Gynec.* 113(6): 751-758. July 15, 1972.
 51. Goldstein, D.P., Miyata, Y., Taymur, M.L., Levesque, L.A. A rapid slide-phase radioimmunoassay for the measurement of serum-luteinizing hormone-human chorionic gonadotropin (LH-HCG) activity in very early pregnancy. *Fert. Steril.* 23(11): 817-822. November, 1972.
 52. Buster, J.E. and Abrahan, E.E. the applications os steroid hormone radioimmunoassays to clinical obstetrics. *Obstetrics and Gynecology.* 46(4): 489-499. October, 1975.
 53. Kosasa, T.S., Levesque, L.A., Goldstein, D. P., Taymur, M.L. Clinical use of a solid-phase radioimmunoassay. Specific for humanchorionic gonadotropin. *American Jour. of Obstretics and Gynecology.* 119(6): 784-791. July, 1974.
 54. Wide, L. Early diagnosis of pregnancy. *Lancet.* 2 (7626): 863-864 October 25, 1969.
 55. Lau, H.L. Informes médicos. Programas de Planificación Familiar Centro Médico Universidad G. Washington. Serie J. No. 7 Junio, 1976.
 56. Landesman, R. and Saxena, B.B. Results of the firsts 1.000 radioreceptorassays for the determination of HCG: a new rapid and sensitive test for pregnancy. Paper presented at the annual Meeting of American Fertility Society. Los Angeles. April 3, 1975.
 57. Op. cit. Ref. 43.
-