

Estudos e revisão dos principais testes para o diagnóstico precoce da gravidez.

I. Testes Biológicos

por

Maria Isabel Mello

Trabalho da Divisão de Química e Farmacologia

Diz WEISMAN (56) em uma crítica que fez dos métodos empregados para o diagnóstico precoce da gravidez, que "nenhum tópico em obstetrícia até a data presente (1938) recebeu um estudo universal tão intenso".

A computação de uma grande parte da bibliografia existente sobre a matéria bem como o ensaio das técnicas que nos pareceram mais interessantes e específicas, permitiu-nos a realização do presente trabalho.

Atendendo à diversidade das técnicas empregadas e para maior facilidade, agrupamos os testes em 4 capítulos: Biológicos, Químicos, Alérgicos e Indiretos. Dêste modo foi-nos possível estabelecer um estudo crítico e comparativo. Designamos de *testes biológicos*, aqueles cuja reação final é observada em animais; *testes químicos*, baseados na presença de hormônios ou substâncias outras normalmente presentes na gravidez e que se conseguem evidenciar por meios químicos; *tests alérgicos*, quando substâncias alergizantes injetadas em indivíduos suspeitos permitem o diagnóstico; *testes indiretos*, todos aqueles que não se enquadram nas divisões anteriores.

Testes biológicos (camundongas e ratas)

ZONDEK e ASCHHEIM (1 e 2) trabalhando independentemente verificaram que a implantação da hipófise anterior em camundongas imaturas de 6 a 8 grs. produzia hipertrofia uterina, estro, maturação dos folículos de Graaf ou formação de *corpora lutea*.

Em 1928 (2 e 3) êstes autores consideraram uma destas três formas de resposta como significativa da presença dos hormônios da hipófise anterior, denominando-os :

APRI — (reação I da hipófise anterior) formação de folículos de Graaf maduros ou de recente *corpora lutea*.

APRII — Aparecimento de “Blutpunkte”, pequenos pontos vermelhos, visíveis a olho nu nos ovários e que representam a hemorragia dos folículos normais e anormais.

APRIII — Transformação de células luteínicas em folículos e formação de *corpora lutea* na qual a ovulação não ocorre e o “ovum” permanece retido (*corpora lutea atresica*).

ASCHHEIM (3) e ZONDEK (62), verificando que a urina de mulheres grávidas provoca as duas últimas reações passaram a empregar camundongas para o diagnóstico de gravidez, considerando positivas aquelas urinas que produzem as reações II e III no fim de 100 horas.

A técnica consistia em injetar 2 vezes ao dia durante 3 dias 1-2cm³ de urina, usando 5 animais para cada dose e estes sacrificados 100 horas após a primeira injeção. Nos casos positivos verificavam estro, hipertrofia uterina, aparecimento de corpos hemorrágicos e formação de *corpora lutea*.

Em 315 espécimes de urina proveniente de mulheres nas primeiras 8 semanas de gestação, obtiveram 211 respostas corretas positivas. Em 236 urinas de mulheres não grávidas obtiveram 232 corretas negativas.

SIDDAL (50), WEMBTER e SCHULTZE (58), BRÜHL, KRAUL e RIPPEL (29), MACK e AGNEW (34), repetiram o teste de ASCHHEIM e ZONDEK, com uma percentagem de 98-99,4 % de resultados corretos positivos. FELS trabalhando com soro de 38 mulheres grávidas e FLUHMANN (16) com soro de 48 obtiveram respostas iguais às obtidas com urina.

Em 1935, ASCHHEIM (4) assinala em 2.000 casos estudados. 98% de reações corretas positivas e 99,5% de reações corretas negativas. De 1928 a 1935, 43 grupos de pesquisadores realizaram 24.837 reações com um resultado de apenas 1,8% falsas positivas.

Pequenas alterações vêm sendo introduzidas, tais como, número de injeções doses, desintoxicação da urina, número de animais, tempo de leitura etc, porém a resposta biológica é sempre a mesma : presença de corpos hemorrágicos, hiperemia do útero e ovário, formação de *corpora lutea*.

Em 1930, BROUHA (8) substituiu o camundongo fêmea por macho, observando a ação dos hormônios presentes na urina gravídica sobre os testículos. Esta modificação não teve muitos adeptos, pois que a resposta não é específica e só se dá com quantidades grandes de material ativo.

ZAHARESCO (60) e col. em 1935, procuraram estabelecer um teste, com ratos de 20 a 100 grs. Injetavam diariamente 1cm³ de sôro ou urina e sacrificavam os animais 24 horas após 7 a 10 dias da 1.^a injeção. A relação entre o pêso do corpo e da vesícula seminal nos animais normais é de 0,20 a 0,40; sendo maior que 1, o teste é positivo. Esta técnica não teve aceitação apesar dos autores terem obtido uma percentagem de resultados corretos positivos de 98,5%.

Em 1931, MAZER e HOFFMAN (37) verificaram que as ratas imaturas ou camondongas castradas apresentavam queratinização da vagina quando injetadas com urina gravídica. Essa reação é devida a presença da foliculina que já está aumentada desde a primeira semana na gravidez. O estro total em 96 horas dá resposta positiva. A diferença entre a resposta observada quando se injetam os hormônios hipofisários ou o hormônio folicular para provocar o estro e abertura da vagina é de que os hormônios hipofisários agem sôbre os ovários, provocando mudanças neles, não reagindo em animais castrados, enquanto que o hormônio folicular ovariano provoca mudanças vaginais produzindo estro.

KELLY em 1933 (25), preconizou a abertura e queratinização da vagina em 72-84 horas nas ratas albinas injetadas com urina gravídica, como sendo uma resposta positiva. Esta resposta é devida ao aumento de estrina na gravidez.

Em 1933, REIPRICH (45) observou ser a rata imatura muito mais sensível que a camondonga à injeção de 10 a 25cm³ de urina gravídica observando-se hiperemia e hipertrofia dos ovários e o seu aumento de 3 a 4 vezes quando positiva, em 24-36 horas .

MULL e UNDERWOOD (40), WALTER e WALK (55), KELSO (26), FRANK (17), ASCHHEIM (5), SALMON e col (47), SALLES (46), KUPPERMAN e col. (30), AMARAL (1), KAMINESTER (23) e muitos outros, obtiveram resultados excelentes, com o teste de REIPRICH modificado.

A hiperemia do estroma e cápsula ovariana já se podem observar com duas horas após a injeção intraperitoneal quando se usam ratas imaturas de 21 a 55 dias de idade (KUPPERMAN e col.). Êstes autores definem como rata imatura aquela em que ainda não houve formação do introito vaginal e do corpo luteo.

A *corpora lutea* dos animais injetados em proestro ou estro, não apresenta os efeitos característicos que se observam nos animais injetados com urina gravídica.

Por isso, para o teste de FRANK (17) (6 horas) devem-se empregar ratas, quando adultas, em diestro ou metaestro, pois que a resposta, depende do efeito vascularizante da gonadotropina sôbre a *corpora lutea* recentemente formada.

Tomando-se estas precauções, ratas de qualquer pêso ou idade poderão servir, e a percentagem dos corretos positivos será muito maior. Costumamos fazer esfregaço vaginal e examiná-los a fresco antes de injetar as ratas. Os resultados obtidos com tais animais tem sido sempre concordantes, não nos ocorrendo até a presente nenhuma resposta falsa positiva ou negativa. A injeção intraperitoneal aplicando metade da dose em cada lado parece apressar a reação quando se faz o teste de 2 horas. No teste de 24-96 horas em que se quer observar a formação da *corpora lutea* a injeção deve ser subcutânea. Além dêstes, outros fatores influem nos resultados, tais como: conservação, desintoxicação e concentração da urina.

Conservação — O melhor é recolher a primeira urina da manhã em ácido acético, clorofórmio ou éter e conservá-la no frio. O éter desintoxica-a em parte.

Para obter respostas satisfatórias logo que se suspeita de gravidez, vários autores aconselham a concentração da urina. As técnicas mais empregadas são as de precipitação pelo álcool de ZONDEK, pelo álcool-acetona de BOWMAN (7), pelo kaolin de Scott (49). A técnica do kaolin além de concentrar, também desintoxica a urina.

Nós a concentramos pela técnica de SCOTT, o que nos facilita para o teste químico. O líquido contendo o hormônio é acertado para pH 6.0 com ácido acético a fim de evitar irritação cutânea no animal.

Repetimos os testes de KUPPERMAN e FRANK comparando-os. Fizemos injeções de 3 cm³ de urina em natureza, injetando 1,5 cm³ de cada lado e levando em consideração os detalhes já explanados. Dos 46 casos estudados todos foram clinicamente confirmados. Houve um caso de reação positiva apesar do fluxo menstrual ocorrer 12 e 10 dias durante 2 meses. Após terapêutica adequada foram feitas outras reações que confirmaram as primeiras. Depois do 3.º mês a gestação normalizou-se. Êste caso foi clinicamente confirmado de gravidez.

Reunimos para maior facilidade os resultados obtidos pelos diversos autores e por nós no quadro que se segue.

QUADRO I — Camondongas e Ratas (1928-1944)

AUTOR	ANO	ANIMAL	MATERIAL	REAÇÃO	TEMPO DE REAÇÃO	N.º DE CASOS	CORRETOS NEGAT.	CORRETOS POSIT.	RESULTADOS FALSOS
Aschheim-Zondek (2).....	1928	Camondongas imaturas 8g.....	Urina 0.5-1.5 cm3..	Hiperemia dos ovários com pontos hemorrágicos.....	100 horas	455	99.5%	98%	—
Siddall (50).....	1928	Camondongas imaturas 12 gr maturás 18 gr.....	Sôro 3-5 cm3.....	Aumento do útero (12 grs) Aumento dos ovários (18 grs).....	96-100 horas	142	97,5%	98%	—
Mazer e Hoffman (37).....	1929	Camondongas castradas.....	Urina dividida em 20 partes e 5 injeções.....	Queratinização da vagina.....	96 horas	245	98%	90%	—
Mazer e Hoffman (39).....	1931	Ratas ou camondongas castradas.....	Substancia estrogênica urina concentrada.....	Queratinização vaginal.....	96 horas	314	97%	75%	—
43 grupos de investigadores.....	1928 1935	Aschheim-Zondek.....	Ligeiramente modificada.....	—	—	24.837	—	—	1,8%
Aschheim (4).....	1935	Camondongas.....	Urina.....	“Blutpunkte”.....	96 horas	2.000	99.5%	98%	—
Burdick, Watson, Ciampa, Ciampa (9).....	1943	Camondongas grávidas ou em diestro de 12-15 grs.....	Gonadotropinas.....	Número de ovos.....	18-24 horas	—	—	—	—
Brouha (8).....	1930	Camondongos machos imaturos (7-10g).....	Gonadotrópinas urinária.....	Desenvolvimento dos testículos.....	—	—	100%	100%	—
White e Severance (59).....	1931	Camondongos machos imaturos.....	Gonadotropinas urinária.....	Desenvolvimento dos testículos.....	—	27	—	—	1,8%
Reiprich (45).....	1933	Ratas imaturas.....	Urina 10-25-cm3.....	Hiperemia e hipertrofia dos ovários.....	24-36 horas	—	—	100%	—

AUTOR	ANO	ANIMAL	MATERIAL	REAÇÃO	TEMPO DE REAÇÃO	N.º DE CASOS	CORRETOS NEGAT.	CORRETOS POSIT.	RESULTADOS FALSOS
Kelly (25).....	1933	Ratas albinas.....	Urina.....	Abertura e queratinização vaginal.....	72-84 horas	—	—	—	—
Mull e Underwood (40).....	1937	Ratas imaturas.....	Urina 2cm ³ 5 dias..	Hiperemia e hipertrofia dos ovários.....	6 dias	702	—	91 %	—
Walker-Walk (55).....	1938	Ratas 30-45 dias.....	Urina 1.5-4.5 cm ³ ...	Ovário hiperêmico folículos hemorrágicos.	30 horas	153	100%	100%	—
Kelso (26).....	1940	Ratas imaturas 20 a 40 dias.....	Injeções de urina 0.5-1 cm ³	Hiperemia dos ovários.	24-72 horas	130	—	98,8%	—
Frank e Berman (17).....	1941	Ratas de 50 grs.....	Urina 2 injeções ao dia de 5cm ³	Ovário e útero hiperêmicos folículos hemorrágicos.....	8-24 horas	201	—	98%	—
Aschheim (5).....	1942	Ratas 22 a 35 g.....	Urina 0.5 cm ³	Queratinização vaginal.....	84-96 horas	—	—	—	—
Salmon, Geist, Salmon, Frank (47).....	1942	Ratas imaturas 35-45 grs de 22-25 dias....	Urina 2cm ³ subcutanea.....	Útero hiperêmico abertura da vagina reação vascular dos ovários.	6-24 horas	118	—	100%	—
Sales (46).....	1943	Ratas imaturas 50 grs.	Urina 10cm ³	Congestão ovariana e folículos róseos.....	8-24 horas	50	—	—	—
Kupperman Greenblat Noback (30).....	1943	Ratas imaturas 21-55 dias ou 30 a 100 grs..	Urina 1.5 cm ³ em 4 doses.....	Hiperemia do stroma e cápsula ovariana..	2-6- horas	86	98%	100%	—
Kaminester (23).....	1944	Ratas imaturas 30 grs	Urina 2cm ³	Hiperemia do útero e ovário.....	6 horas	162	98%	100%	—
Mello.....	1944	Ratas imaturas.....	Urina concentrada 3cm ³	Hiperemia do estroma e cápsula ovariana...	2-4 horas	46	—	100%	—
Zaharesco-Karaman e colaboradores (60).....	1935	Ratos.....	1 cm ³ sôro ou urina.	Ponderal (pêso corpo/vesicula seminal)....	7-10 dias	—	—	98,5%	—

(*) Corretos negativos são os casos determinados em homens e mulheres normais.

Apreciação dos métodos citados

Merecem especial referência as técnicas preconizadas por FRANK e por KUPPERMAN. A probabilidade de resultados falsos é muito menor sendo possível obter uma estatística de 100% de resultados corretos.

A formação e vascularização da *corpora lutea* (pontos róseos e vermelho-escuro) associada a vaso-dilatação e hiperemia do estroma ovariano exprimem um estado gravídico.

Nos casos de amenorréia por excesso de substâncias estrogênicas não se observam a vascularização e formação de *corpora lutea*. Isto permite fazer um diagnóstico diferencial.

Os testes de MAZER e HOFFMAN além de mais trabalhosos são menos específicos, pois que se baseiam apenas na eliminação das substâncias estrogênicas.

O teste em camundongos e ratos machos como quiseram introduzir BROUHA WHITE e SEVERANCE e ZAHARESCO e col. apesar de ter dado ótimos resultados nas mãos dos AA. não pode ter uma aceitação geral, por ser mais demorado. Entretanto, como o desenvolvimento da vesícula seminal é estimulado em grande parte pela fração luteinizante, poderia uma resposta negativa em casos suspeitos servir de orientação para o diagnóstico de abôrto.

BURLICK e col. trabalhando com gonadotropinas extraídas da urina gravídica provocaram ovulação em camundongas e ratas prenhes, baseando a resposta no número de ovos libertados de 18 a 24 horas. Êste teste foi por nós executado em 5 casos com resultados positivos, mas não o julgamos exequível porque é difícil obter animais nas condições exigidas pelo teste. Nas camundongas em diestro a resposta é observada depois de 6 horas enquanto que na rata a resposta é verificada em 2 horas.

Assim julgamos os testes de FRANK ou KUPPERMAN superiores a todos os outros relatados.

Coelhas

Ao mesmo tempo que se multiplicavam as modificações para a técnica de ASCHHEIM e ZONDEK em camundongas e ratas, vários autores pensavam em empregar outros animais.

HAMMOND e MARSHALL em 1925 (21) estudando a reprodução dos coelhos observou um fenômeno interessante — A coelha não ovula espontânea-

mente, mas só depois do coito, portanto os ovários de uma fêmea virgem não contêm *corpora lutea* ou *corpora hemorrhagica*.

FRIEDMAN em 1929 (18) e JARES em 1930 (22) estudando o mecanismo da ovulação verificaram que os ovários de coelha respondem prontamente à injeção de urina de mulheres grávidas.

Baseados nestas observações e em vista das dificuldades para obtenção de camundongas no pêso e em quantidade suficiente para realizar um número grande de determinações, FRIEDMAN e LAPHAN (19) resolveram experimentar a coelha virgem como animal reagente. A urina era injetada intravenosamente 3 vêzes ao dia por 2 dias e o animal sacrificado 48 horas após a primeira injeção. Os resultados obtidos foram plenamente satisfatórios.

Em 11 casos suspeitos não houve uma resposta falsa. Em 51 especimes provenientes de mulheres não grávidas e 2 homens houve uma concordância absoluta de resultados. MARTINS (36) na mesma época verificou o mesmo fato aplicando-o também para o diagnóstico da gravidez.

SCHWARTZ (48), SPIELMAN (51), BEST e MCHENRY (6), GOLDBERGER e col. (20), FERESTEN (14), BARBOSA, CRAINCIANU (10), RAMOS e GONZALEZ (44), VESSEL e GODMAN (54) e muitos outros empregaram o teste de FRIEDMAN e LAPHAN com modificações. As principais modificações introduzidas foram: redução no n.º de injeções (de uma para seis), material, substituição da urina pelo soro, ou líquido cefalo raquiano (só nos casos de eclampsia) o uso de 2 coelhas em vez de uma, laparotomia exploradora, aproveitamento do mesmo animal para várias reações, no intervalo de 15 a 20 dias entre uma reação e outra. Estas modificações concorreram para a maior exatidão do método.

Os resultados obtidos pelos autores citados foram tabelados no quadro II.

QUADRO II — Testes biológicos em coelhas (1931-1943)

AUTOR	ANO	ANIMAL	MATERIAL	REAÇÃO	TEMPO DE REAÇÃO	N.º DE CASOS	CORRETOS NEGAT.	CORRETOS POSIT.	RESULTADOS FALSOS
Friedman e Laphan (19).....	1931	Coelhas virgens.....	Urina 6 doses de 4 4cm ³ via endove- nosa	Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	48 horas	—	—	100%	—
Martins (36).....	1932	Coelhas virgens.....	—	—	48 horas	1.102	99,1%	—	—
Schwartz (48).....	1933	Coelhas.....	Sangue ou plasma.	Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	—	—	—	—	—
Best e McHenry (6).....	1933	Coelhas.....	Urina.....	Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	48 horas	538	98,4%	97,1%	—
Goldberger, Salmon e Frank(20)	1934	Coelhas virgens.....	Urina.....	Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	48 horas	1.093	99,44	99,91	—
Crainicianu (10).....	1940	Coelhas virgens.....	Urina.....	Exame transperitoneal dos ovários com ure- teroscopia.....	—	100	—	100%	—
Scott (49).....	1940	Coelhas e rãs.....	Gonadotropinas pre- cipitadas da u- rina.....	Folículos hemorrágicos	48 horas	+ de 1000	—	99,8%	—
Pecego (43 a)	1936 1944	Coelhas virgens.....	Urina.....	Deposição de ovos com coloração da cloaca.....	5-6 horas	—	—	—	—
29 grupos de investigadores...	1932 1937	Coelhas virgens.....	Urina.....	Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	—	640	—	96,6	1,4%
				Hiperemia dos ovários pontos hemorrágicos.	—	11.123	99,4	99,58	—

Cobaias

LEATHEM e STARKEY (32) em 1940 verificaram que a injeção de soro ou de urina de égua prenhe em cobaias é capaz de causar abertura da vagina, hipertrofia do útero, estímulo dos ovários e formação de corpo luteo. PADDOCK, (42) empregando soro de mulher grávida, obteve os mesmos resultados. Injetava subcutaneamente na região pectoral 1,2 a 1,5 cm³ de soro em cobaias de 30 a 45 dias de idade. A abertura da vagina era verificada entre 24 e 48 horas.

Em 254 casos não houve uma resposta falsa. Em vista dos resultados obtidos por PADDOCK procuramos empregar o teste, trabalhando com urina em natureza e tratada pelo KAOLIN, em vez do soro. As injeções foram feitas por via intraperitoneal. Injetamos 5 cm³ divididos em 2 doses. Quando empregamos o eluato do KAOLIN acertado para pH 6,0 obtivemos em todos os animais experimentados abertura da vagina com aumento e hiperemia das trompas bem como dos ovários. Tivemos sempre o cuidado de empregar cobaias imaturas. Em alguns casos usamos cobaias adultas em diestro, observando-se a reação após 6 horas da injeção — Em 63 casos de gravidez não observamos nenhum resultado falso — Verificamos também que a mesma co-baia pode ser usada 1 semana depois da reação (39-a).

QUADRO III — Cobaias

AUTOR	Ano	Animal	Material	Reação	Tempo de reação	Nº de casos	Corretos Negativos	Corretos Positivos	Resultados falsos
Paddock (42)	1941	Cobais imaturas 30-45 dias	1 a 1.5 cm ³ de soro	Abertura da vagina	24-48 horas	254	—	100%	—
Melo (39 a)	1944	Cobais imaturas 200-250 grs. 20-30 dias.	Urina 5 cm ³	Hiperemia do estroma ovárico e do útero abertura da vagina	12-24 horas	63	—	100%	—

Peixes e Batráquios

TOSAWA (53) estudando particularmente os peixes japoneses da família Cyprininae, verificou que na época de reprodução (entre 20 de abril a 10 de maio, nos arredores de Tóquio) estes animais sofrem modificações acentuadíssimas. Em relação à côr (coloração nupcial) os machos apresentam melanoforos, eritroforos, guanoforos e xantoforos. Estas mudanças de côr se

verificam especialmente na cabeça, opérculo, regiões antero-laterais, caudais e anal. Na fêmea a coloração é menos aparente e aparece nas regiões anal e dorsal. Os caracteres sexuais secundários, difíceis de distinguir nas outras épocas do ano são evidenciados facilmente. O macho apresenta *pearl organs* em grande quantidade sobre o opérculo, entre os raios do pectoral e as nadadeiras dorsais e anais. Os *pearl organs* assemelham-se a pequenas verrugas brancas, cones côncavos e ocos constituídos pela cornificação da camada celular da epiderme (52). Além disto, sua coloração brilhante serve para diferenciá-lo da fêmea.

A fêmea, de coloração apagada, liberta, na época de geração, o ovopositor. Êste encontra-se em oclusão numa prega alongada da pele, em frente ao anus e ao longo do corpo na parte ventral.

Observando que êstes fenômenos só ocorrem na época de procriação tanto nos machos como nas fêmeas, TOSAWA procurou determinar a origem dêles, que julgava hormonal. Castrou 30 machos e 26 fêmeas verificando que nenhum dos fenômenos observados em animais normais ocorria nos gonadectomizados.

Colocando por outro lado, urina gravídica no aquário verificou o aparecimento da coloração no macho, em diferentes épocas do ano.

Assim, o autor sugeriu fôsse o aparecimento de coloração no macho, quando a água do aquário contém urina gravídica, empregado como testes para o diagnóstico da gravidez.

Em 1932 ZONDEK e KROHN (63) trabalhando com peixes ("Ciprinus Phoxinus laevis") conseguiram evidenciar um hormônio pigmentário da hipófise, que denominaram *Intermedin*. Colocando quantidades variáveis do hormônio no aquário ou injetando os peixes verificaram o aparecimento de coloração eritrofora nesses animais na época de quiescência.

MANDELSTAMM em 1934 (35), trabalhando com o "Stichling" em tanque com urina gravídica verificou uma reação melanofora intensa duas horas após.

As verificações de ZONDEK e KROHN tornam inespecíficos para a gravidez, os testes baseados na mudança de cor dêsses peixes.

FLEISHMAN e KANN em 1932 (15) repetiram as experiências de TOSAWA com o "Bitterling" fêmea empregando porém substâncias puras, *progynon* e *prolan*. O *progynon* provoca o aparecimento e alongamento do ovopositor, tanto nos animais normais como nos castrados. Os animais hipofisectomizados e injetados com *prolan* não apresentam reação alguma. Empregaram 250

peixes nestas experiências. Trabalhando com urina gravídica verificaram o alongamento do ovopositor e preconizaram esta reação como diagnóstica para a gravidez. SZUSZ em 1934 (51-a) tratou 48 *Rhodeus amarus* com urinas de mulheres grávidas fervidas e em natureza. Verificou que o alongamento do ovopositor se processava de 36-72 horas. Eliminou assim a hipótese que os hormônios do lobo anterior da hipófise influenciem a reação.

KANTER-BAUER e KLAWANS (24) tratando animais normais e castrados com urina gravídica chegaram à conclusão de que o aumento e libertação do ovopositor são devidos às substâncias estrogênicas presentes em grande quantidade na urina gravídica. Comparando os resultados obtidos com a *Bitterling* fêmea em um número elevado de casos com o teste de ASCHHEIM e ZONDEK propõem o alongamento do ovopositor como um teste excelente para o diagnóstico da gravidez.

OWEN em 1936 (41) repetiu o teste com o *Rhodeus amarus* (machos e fêmeas) verificando a importância da concentração hormonal do prolactina, teelol e antuitrin S.

Os machos reagem, dando porém respostas inconstantes.

Conclui o autor que a resposta positiva é a consequência da ação dos vários hormônios presentes na urina gravídica e não a de um só hormônio.

KLEINER, WEISMAN e MISHKIND em 1936 (27) verificaram que a "Bitterling" fêmea reage muito bem com os hormônios sexuais masculinos bem como aqueles de fórmulas estruturais correlatas.

Os testes para gravidez baseados nas reações melanóforas ou de alongamento do ovopositor empregados pelos diversos autores oferecem uma média de 75 % corretos positivos que é uma percentagem muito baixa para que estes testes sejam aceitos sem restrições.

KONSULOFF (28) procurou aplicar a reação melanofora da *Rana Esculenta* hipofisectomizada quando injetada com urina suspeita como reação diagnóstica para gravidez. Esta reação foi repetida por BRÜHL e RIECKOFF. Estes só verificaram a reação empregando urina concentrada.

SHAPIRO e ZWARENSTEIN em 1935 (49-a) empregaram uma rã da África do Sul, a *Xenopus laevis* como animal teste para o diagnóstico da gravidez. A reação é baseada na função biológica peculiar da fêmea adulta da *Xenopus laevis*. Os ovos encerrados na cloaca são expelidos somente com a copulação. Além disto estes animais não ovulam no cativeiro. Injetando urina concen-

QUADRO IV — Peixes e Batráquios

AUTOR	ANO	ANIMAL	MATERIAL	REAÇÃO	TEMPO DE REAÇÃO	N.º DE CASOS	CORRETOS NEGAT.	CORRETOS POSIT.	RESULTADOS FALSOS
Tozawa (53).....	1929	Peixe macho Bitterling.....	Urina no tanque....	Mudança de cor.....	2-24 horas	—	—	—	Não e específico
Fleischmann-Kann (15).....	1932	Peixe Bitterling — fêmea.....	Urina no tanque....	Alongamento do ovopositor.....	6-12 horas	—	—	—	—
Kanter-Bauer Klawans (24)...	1934	(Acherlongnatus intermedium) Peixe Japonês.....	Urina.....	Alongamento do ovopositor.....	6-24 horas	—	—	—	—
Owen (41).....	1936	Peixe Bitterling — fêmea <i>Rhodeus amarus</i>	Urina no tanque....	Alongamento do ovopositor.....	12-24 horas	—	—	75%	—
Mandelstamm (35).....	1935	Peixe (Stichling).....	Urina no tanque....	Reação melanofora...	2 horas	—	—	75%	—
Shapiro e Zwarenstein (49 a)...	1935	Rã (<i>Xenopus laevis</i>)..	Urina.....	Estímulo do ciclo reprodutivo com deposição dos ovos na cloaca.....	6-22 horas	132	—	100%	—
Elkan (13).....	1938	<i>Xenopus laevis</i>	Urina em natureza 2cm ³	Deposição dos ovos 10-50.....	4-12 horas	—	—	—	—
Crew (12).....	1939	<i>Xenopus laevis</i>	Urina tratada.....	Deposição dos ovos...	6-12 horas	573	—	99,8%	—
Laves (31).....	1940	<i>Xenopus laevis</i>	Urina acidificada 1cm ³	Deposição dos ovos (+ 50 positiva).....	24 horas	—	—	99,9%	—
Weisman Snyder Coates (57)...	1942	<i>Xenopus laevis</i>	Urina tratada.....	Deposição dos ovos...	4-12 horas	53	—	—	—
Konsulov (28).....	1934	Rã (<i>Rana esculenta</i>) Hipofisectomizadas..	Urina 2.5cm ³	Reação melanofora....	1-2 horas	—	—	—	—

trada contendo os hormônios peculiares da gravidez êstes autores conseguiram a expulsão de ovos em 6-22 horas nos 132 casos observados. Obtiveram 100% de respostas corretas.

ELKAN em 1938 (13) repetia o teste observando a resposta de 6 a 12 horas. A deposição de 5 a 6 ovos é considerada resposta positiva. CREW em 1939 (11-12) realizou comparativamente os testes de ASCHHEIM e ZONDEK, FRIEDMAN em "*Xenopus laevis*" num total de 573 casos. Observou uma percentagem de 99,8 % de respostas corretas para a *Xenopus laevis*, numa concordância perfeita com os 2 primeiros métodos.

LAVES em 1940 (31) relata também uma percentagem ótima de resultados corretos com a *Xenopus*.

WEISMAN, SNYDER e COATES (57) em um trabalho comparativo dos testes de FRIEDMAN e da rã, verificam em 53 casos a concordância absoluta dos resultados.

As vantagens oferecidas pelo teste da *Xenopus laevis* sobre os das camundongas, ratas, cobaias, coelhas e peixes, são as seguintes: rapidez, simplicidade, economia, manutenção, técnica, praticabilidade, leitura da reação e ausência de precauções especiais.

Reunimos no quadro abaixo os resultados de alguns autortes.

BIBLIOGRAFIA

1. AMARAL (C)
1943 Sobre a dosagem dos Hormônios Gonadotrópicos. Med. Cir. Phar. 90, 476-482.
2. ASCHHEIM (S) e ZONDEK (B)
1928 "Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn (durch Hormonnachweis)".
Klin. Wochenschr. 7, 1, 8-9.
3. ASCHHEIM (S)
1928 Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons II Praktische und Theoretische Ergebnisse aus den Harnuntersuchungen.
Klin. Woch. 7, 31, 1.453-1.457.
4. ASCHHEIM (S)
1935 Pregnancy tests.
J. A. M. A. 104, 1.324-1.329.
5. ASCHHEIM (S)
1942 Simplified method for biological diagnosis of pregnancy. *Jour. Lab. Clin. Med.* 27, 547.

6. BEST (C. H.) e MCHENRY (E. W.)
1933 Friedman modification of Aschheim-Zondek test for diagnosis of pregnancy.
Canad. Med. Ass. Jour. 28, 599-600.
7. BOWMAN (D. E.)
1939 The use of a reducing factor of pregnancy urine in the diagnosis of pregnancy.
J. Lab. Clin. Med. 24, 1.072-1.079.
8. BROUHA (L), HINGLAIS (H) e SIMONNET (H)
1930 L'action de l'urine de femme enceinte sur le tractus génital de la souris et en particulier de la souris mâle. Son utilisation pour le diagnostic biologique de la grossesse. Remarques sur quelques conclusions à en tirer pour la physiologie gravidique.
Bull. Acad. Méd. 103, 4, 150-160.
9. BURDICK (H. O), WATSON (H), CIAMPA (V) e CIAMPA (T)
1943 A rapid test for pregnancy gonadotropins on the basis of induced ovulation in mice.
Endocrinol. 33, 1, 1-15.
10. CRAINCIANU (A)
1940 Le diagnostic précoce de la grossesse, par la réaction de Friedman, Brouha, a laide de l'ovariescopie transpéritoneale.
Rev. Fr. Gynec. Obst. 35, 30-33.
11. CREW (F. A. E.)
1937 Notes from a pregnancy diagnosis laboratory (1936) Am. Jour. Obst. Gynec. 33, 989-999.
12. CREW (F. A. E.)
1939 Biological pregnancy diagnosis tests. A comparison of the rabbit, the mouse, and the "clawed toad" (*Xenopus laevis*) as the experimental animal.
Brit. Med. Jour. 1, 2, 766-770.
13. ELKAN (E. R.)
1938 Pregnancy test (S. A. Clawed toad)
Brit. Med. Jour. 2, 1.253.
14. FERESTEN (M)
1937 Report of 1.600 Aschheim-Zondek tests (Friedman-modification) Endocrinol. 21, 116-118.
15. FLEISCHMANN (W) e KANN (S)
1932 Über eine Funktion des Weiblichen Sexualhormons bei Fischen (Wachstum der Legeröhre des Bitterlings).
Pflüg. Arch. Ges. Physiol. 230, 662-667.

16. FLUHMANN (C. F)
1929 Anterior pituitary hormone in the blood during pregnancy.
Jour. Am. Med. Assn. 92, 2, 1.744-1.748.
17. FRANK (R. T.) e BERMAN (R. L.)
1941 A twenty-four-hour pregnancy test.
Am. Jour. Obst. Gynec. 42, 492-496.
18. FRIEDMAN (M. H.)
1929 Mechanism of ovulation in rabbit, ovulation produced by injection of urins from pregnant women.
Am. Jour. Physiol. 90, 617-622.
19. FRIEDMAN (M. H.) e LAPHAN (M. E.)
1931 A simples, rapid procedure for the laboratory diagnosis of early pregnancies.
Am. Jour. Obst. Gynec. 21, 3 405-410.
20. GOLDBERGER (M. A.), SALMON (V) e FRANK (R. T.)
1934 Values of Friedman test in diagnosis of intra-uterine and extra-uterine pregnancy.
Jour. Am. Med. Ass. 103, 1.210-1.212.
21. HAMMOND e MARSHALL
1925 Reproduction in the rabbit. Oliver and Boyd — London.
22. JARES (J. J. JR.)
1930 Studies on ovulation induced by extracts of the hypophysis and by the urine of pregnant women.
Anat. Rec. 45, 264.
23. KAMINESTER (S)
1944 Experiency with the six hour rat test for pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 47, 2, 265-267.
24. KANTER (A. E.), BAUER (C. P.) e KLAWANS (A. H.)
1934 A new biologic test for hormones in pregnancy urine.
Jour. Am. Med. Ass. 103, 2, 2.026-2.027.
25. KELLY (G. L.)
1933 Simple test for pregnancy using immature female albino rats.
Jour. Am. Med. Ass. 100, 1, 1.010-1.013.
26. KELSO (R. E.)
1940 A twenty-four-hour test (Aschheim-Zondek modification) for the diagnosis of pregnancy.
Am. Jour. Clin. Pathol. 10, 293-299.

27. KLEINER (I. S.) WEISMAN (A. I.) e MISHKIND (D. I.)
1936 Use of the female Bitterling as a test for male hormone.
Jour. Am. Med. Assoc. 106, 2, 1.643-1.644.
28. KONSULOFF (S)
1934 Schnelldiagnose der Schwangerschaft durch die Melanophorenreaktion
Klin. Wochenschr. 13, 21, 776-777.
29. KRAUL (L) e RIPPEL (J)
1929 Erfahrungen mit der Zondek-Aschheim'schen Schwangerschaftsprobe
Zentralbl. Gynäk, 53, 1, 22-26.
30. KUPPERMAN (H. S.), GREENBLATT (R. B.) e NOBACK (C. R.)
1943 A two and six-hour pregnancy test.
Endocrinol. 3, 10, 548-550.
31. LAVES (W)
1940 Über den Hogben-test zum biologischen Schwangerschaftsnachweis.
Deut. Medz. Wochenschr. 66, 1, 5-7.
32. LEATHEM (J. H.) e STARKEY (W. F.)
1940 Reaction of immature female guinea-pigs to gonadotropic extracts.
Proc. Pennsylv. Acad. Sci, 14, 109-114.
33. LOURIA (H. W.) e ROSENZWEIG (M)
1928 The Aschheim-Zondek hormone test for pregnancy.
Jour. Am. Med. Ass. 91, 1988.
34. MACK (H. C.) e AGNEW (G. H.)
1934 A comparison of the Aschheim-Zondek and the Friedman tests in normal and abnormal pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 27, 232-239.
35. MANDELSTAMM (A)
1935 Biologischer Nachweis von Melanophorenhormon in Harn Schwangerer am Fischtest.
Zentralbl. Gynäk. 59, 46, 2.737-2.741.
36. MARTINS (TH)
1930 Citação de Soares (S) — 1930 O diagnóstico da gravidez pela pesquisa dos hormônios pré-hypophysarios da urina. Modificação da técnica de Aschheim-Zondek.
These Faculdade do Rio de Janeiro.
37. MAZER (CH) e HOFFMAN (J.)
1929 The diagnosis of early pregnancy through the detection of female sex hormone in the urine.
Am. Jour. Obst. Gynec. 17, 2, 186-191.

38. MAZER (CH) e HOFFMAN (J.)

1929 On the occurrence of ovarian and anterior pituitary hormones in the urine of pregnant women.

Am. Jour. Obst. Gynec. 18, 1, 48-53.

39. MAZER (CH) e HOFFMAN (J.)

1931 The three hormone-tests for early pregnancy their clinical evaluation: a comparative study.

Jour. Am. Med. Ass. 96, 1, 19-23.

39-a. MELLO (M. I.)

Em impressão.

40. MULL (J. W.) e UNDERWOOD (H. D.)

1937 Evaluation of the practical use of the Aschheim-Zondek pregnancy test.

Am. Jour. Obst. Gynec. 33, 850-853.

41. OWEN (S. F.)

1937 The reaction of fish to sex hormones. Endocrinology 20, 2, 214-218.

42. PADDOCK (R)

1941 A test for pregnancy, technic and comparative results.

South. Med. Jour. 34, 174.

43. PAPANICOLAU (G. N.)

1926 A specific inhibitory hormone of the corpus luteum its contrast with the female sex (Follicular) hormone.

Jour. Am. Med. Ass. 86, 2, 1.422-1.424.

43-a. PECEGO (J. J. M.)

Comunicação pessoal.

44. RAMOS (P) e GONZALEZ (COLLAZO)

1941 Valor de la determinacion cuantitativa biologica (Gonadotropinas corionicas en el diagnostico del embarazo ectópico.

Prensa Med. Arg. 28, 1.039.

Rev. Med. Brasil. 10, 111.

45. REIPRICH (W)

1933 Eine neue Schwangerschafts — schnellreaktion aus dem Harn (30-Stunden — Reaktion).

Klin. Wochnschr. 137, 1.441-1.444.

46. SALLES (A. A.)

1943 Teste de Frank para o diagnóstico precoce da gravidez.

An. Brasil. Ginec. 15, 6, 3-12.

-
47. SALMON (S. H. G.), SALMON (A. A.) e FRANK (I. L.)
1942 A six hour pregnancy test.
Clin. Endocr. 2, 3, 167-170.
48. SCHWARTZ (R.)
1933 Sobre una nueva reacción hormonal del embarazo.
La reaction de Friedman en el plasma sanguíneo.
Semana Med. 1, 1.761-1.765.
49. SCOTT (L. D.)
1940 The concentration and detoxification of human urine for biological pregnancy diagnosis.
Brit. Jour. Exp. Path. 21, 6, 320-324.
50. SIDDAL (A. C.)
1928 The hormone test for pregnancy.
J. Am. Med. Assn. 91, 11, 779-782.
51. SPIELMAN (F.)
1934 The Friedman pregnancy test.
Am. Jour. Gynec. Obst. 27, 448-450.
52. TOZAWA (T.)
1923 Studies on the pearl organ of the Goldfish.
Annot. Zool. Japon. X, 25, 252-263.
53. TOZAWA (T.)
1929 Experiments on the development of the nupcial coloration and pearl organs of the Japanese Bitterling.
Folia. Anat. Japon. 7, 406-418.
54. VESELL (M.) e GOLDMAN (S.)
1941 Friedman tests on spinal fluid in cases of hydatidiform mole and pregnancy.
Am. J. Obst. Gynec. 42, 272-275.
55. WALKER (T. F.) e WALK (D. V. N.)
1938 A modification of Aschheim-Zondek.
J. A. M. A. 111, 1.460.
56. WEISMAN (A. I.)
1938 Recent laboratory tests for the early diagnosis of pregnancy. A critical review of recente experimental work.
Am. Jour. Obst. Gynec. 35, 2, 354-364.
57. WEISMAN (A. I.), SNYDER (A. F.) e COATES (C. W.)
1942 The Frog test (*Xenopus laevis*) as a rapid diagnostic test for pregnancy.
Am. Jour. Obst. Gynec. 43, 1, 135.

58. WERMBTER (F) e SCHULTZE (E)

1929 Untersuchungen über die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn nach Zondek und Aschheim.

Klin. Wochnschr. 8, 21, 970.

59. WHITE (M. R.) e SEVERANCE (A. O.)

1931 Comparison of pregnancy tests.

Jour. Am. Med. Ass. 97, 2, 1.275-1.279.

60. ZAHARESCO-KARAMAN (N), PORUMBARA (I) e FOTIN (A. S.)

1935 Le coefficient d'accroissement des vesicules séminales chez le rat, comme indicateur dans le diagnostic biologique de la grossesse.

C. R. Soc. Biol. 118, 1.665-1.667.

61. ZONDEK (B) e ASCHHEIM (S)

1928 Das hormon des hypophysenvorderlappens. Darstellung, chemische Eigenschaften biologische Wirkungen.

Klin. Wochnschr. 7, 18, 831-835.

62. ZONDEK (B)

1928 Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des hypophysenvorderlappenhormons Grundlagen und Technik der Methode.

Klin. Wochnschr. 7, 30, 1.404-1.411.

63. ZONDEK (B) e KROHN (H)

1932 Hormon des Zwischenlappens der Hypophyse (Intermedin). Die Rotfärbung der Elritz e als Testobjekt.

Klin. Wochnschr. 10, 405-408.