

Detekce plodnosti a těhotenství – v čem může pomoci lékárník?

Pavel Trávník

REPROMEDA, s. r. o., Brno

Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha

Detekce plodných dní i těhotenství má značný význam pro reprodukční zdraví ženy. Ovulační i těhotenské testy jsou založené na podobných principech a mají podobnou konstrukci. V současné době jsou k dispozici testy velmi citlivé a spolehlivé, ale testy různých výrobců se liší kvalitou. Při jejich výběru je třeba dbát na vlastnosti testu i jeho náležitou certifikaci.

Klíčová slova: ovulační test, těhotenský test, plodné dny, ovulace, těhotenství.

Fertility and pregnancy detection – how the pharmacist can help?

Fertile days and pregnancy detections are of great importance for the reproductive health of the women. Ovulation as well as pregnancy test is based on the similar principles and they have similar design. Recently, very sensitive and reliable tests are available, but tests of various producers are different in the quality. Test selection should respect the test properties and its adequate certification.

Key words: ovulation test, pregnancy test, fertile days, ovulation, pregnancy.

Úvod

Detekce plodných dní a těhotenství spolu souvisí, nejprve se snažíme zajistit nejlepší podmínky pro otěhotnění, poté zjistit, zda k němu došlo. Jsou si podobné i příbuzností detekovaných hormonů, principem metody detekce a konstrukce testů a stejnými zásadami péče o spolehlivost a citlivost testu. Při detekci plodných dní u ženy dostáváme informaci, zda žena ovuluje a kdy, při detekci gravidity, zda je žena s vysokou pravděpodobností těhotná. Detekce ovulace umožňuje dosáhnout těhotenství v kratším časovém úseku, což může být důležité zejména u žen ve vyšším reprodukčním věku, snažících se o otěhotnění. Má i diagnostickou hodnotu, protože chybění známek ovulace nebo naopak pravidelná ovulace bez následného těhotenství přivede ženu dříve k reprodukčnímu specialistovi. Včasná detekce těhotenství je důležitá zejména pro úpravu životní správy těhotné ženy.

Které hormony testujeme při ovulačním testu?

Ovulační test je založen na semikvantitativní detekci luteinizačního hormonu (LH). Tento hormon je heterodimer, skládá se ze dvou glykoproteinových podjednotek, alfa a beta. Podjednotku alfa má společnou s dalšími hormony, folikuly stimulujícím hormonem (FSH), tyreotropním hormonem (TSH) a choriovým gonadotropinem (hCG), podjednotka beta je specifická pro tento hormon.

Luteinizační hormon je produkován v hypofýze u obou pohlaví, u ženy spouští závěrečnou část zrání vajíčka a ovulaci, vyvolá přeměnu ovulovaného folikulu na žluté tělísko a stimuluje produkci progesteronu, u muže podporuje produkci testosteronu ve varlatech.

Koncentrace luteinizačního hormonu v krvi je nejspolehlivějším prediktorem ovulace, která je očekávána za 28–36 hodin po začátku vzestupu

pu LH nebo 8–20 hodin po odeznění vrcholu LH (1). Koncentrace LH v moči sleduje spolehlivě krevní hladinu tohoto hormonu (2).

Pro detekci ovulace testem je rozhodující výrazný nárůst koncentrace luteinizačního hormonu (Obr. 1), ne jeho pouhá detekce, proto vyhodnocení ovulačního testu vyžaduje větší pozornost než vyhodnocení testu těhotenského.

Ovulační test je podstatně spolehlivější než měření bazální teploty a také zjišťuje ovulaci s časovým předstihem, což je důležité, protože vajíčko je schopné oplození nejvýše 24 hodin po ovulaci. Detekci luteinizačního hormonu běžně provádíme v moči.

Které hormony testujeme při těhotenském testu?

Těhotenský test zjišťuje přítomnost lidského choriového gonadotropinu (hCG). Tento hormon je rovněž heterodimer, skládá se ze dvou



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: prof. MUDr. Pavel Trávník, CSc., ppravnik@repromeda.cz
REPROMEDA, s. r. o., Brno, Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha
Studentská 812/6, 625 00 Brno

Cit. zkr: Prakt. lékáren. 2017; 13(3): 125–128
Článek přijat redakcí: 29. 12. 2016
Článek přijat k publikaci: 24. 7. 2017

glykoproteinových podjednotek, alfa a beta. Podjednotku alfa má společnou s dalšími hormony, folikuly stimulujícím hormonem (FSH), tyreotropním hormonem (TSH) a luteinizačním hormonem (LH), podjednotka beta je specifická pro hCG.

Choriový gonadotropin je produkován v trofoblastu zárodku (základ budoucí placenty) a v některých nádorech. Lidský zárodek, který vznikl oplozením vajíčka spermií ve vejcovodu a 3. den doputoval do děložní dutiny, začíná produkovat detekovatelné množství choriového gonadotropinu 8. den po oplození, když se zanoří do děložní sliznice (3). To je za normálních okolností (délka cyklu 28 dní) asi 22. den po začátku poslední menstruace. Koncentrace choriového gonadotropinu je u těhotných variabilní (Obr. 2). V průběhu těhotenství nejprve prudce vzrůstá, od 7. týdne opět klesá a zhruba od 15. týdne je stabilní až do konce těhotenství (Obr. 3).

Těhotenský test nemá smysl provádět dříve než alespoň den po vynechání pravidelné menstruace. V této době dosahuje hladina hCG v moči od 10 do 100 mIU/ml, v některých případech (vícečetné těhotenství) může být i vyšší. Naopak nižší může být u mimoděložního těhotenství. Těhotenské testy pro domácí použití mají nejvyšší možnou citlivost 10 mIU/ml. Setkáme se však také s citlivostí nižší, a to 20 mIU/ml, 25 mIU/ml a 40 mIU/ml.

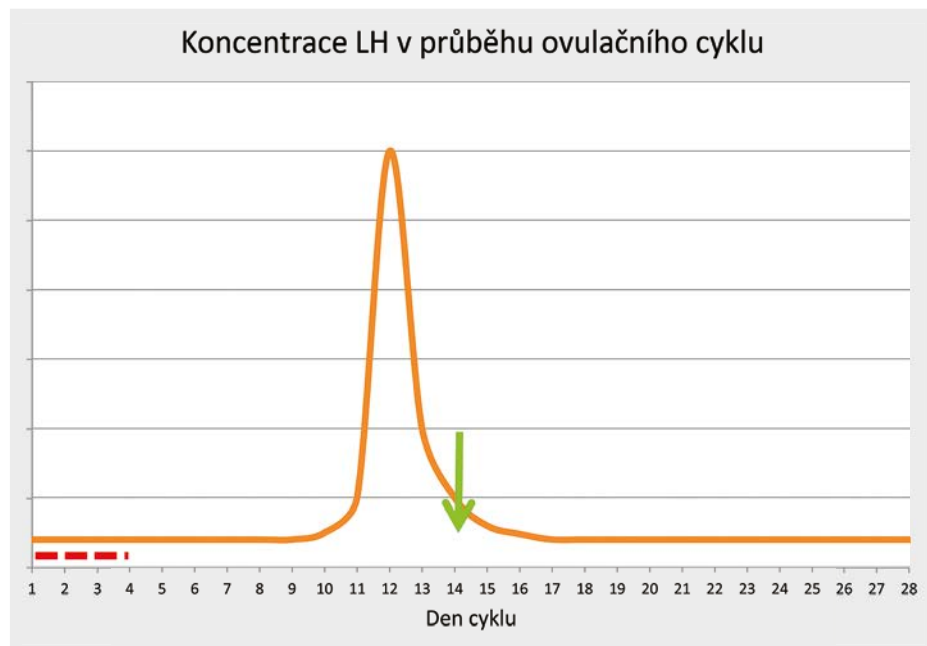
Detekci choriového gonadotropinu běžně provádíme v moči, v některých případech v krvi. Test v krvi je citlivější, prokáže už koncentraci 2 mIU/ml.

Jaký je princip ovulačních a těhotenských testů?

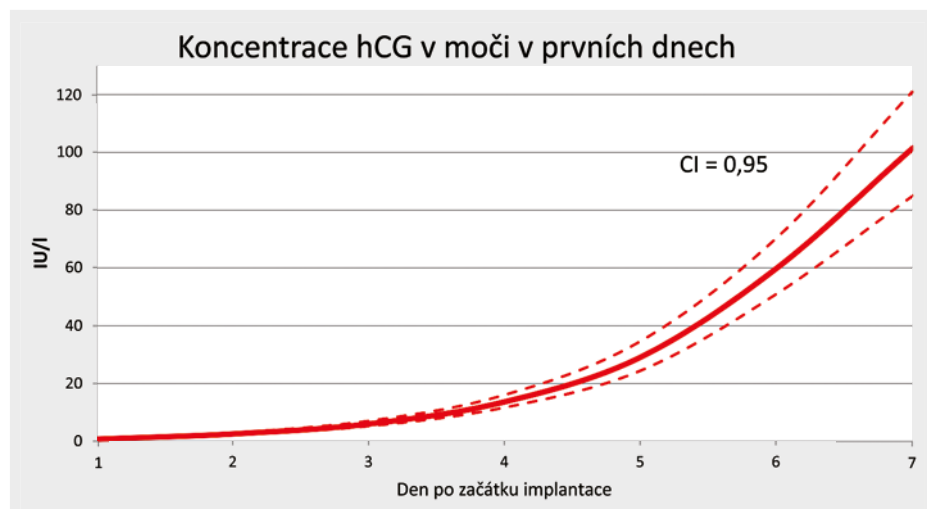
Princip ovulačních i těhotenských testů je společný a je založen na metodě lateral flow immunoassay (LFIA) v přímém provedení (Obr. 4).

Principem LFIA testu je kombinace chromatografie a imunoafinitních reakcí. LFIA test je složen ze čtyř funkčních částí. Vzorek se nanáší na první část, odkud vzorek vzlíná na konjuganční zónu, kde se nachází protilátka spojená s barevnou nanočásticí (zlaté, uhlíkové, barevné latexové nanočástice) a pomocné látky. Konjugát vzniklý vazbou hormonu s touto protilátkou je kapalinou obsaženou ve vzorku unášen na membránu, kde je testovací a kontrolní linie. Vzorek, který proteče přes obě linie, je nasáván

Obr. 1. Graf znázorňuje průběh koncentrace luteinizačního hormonu v moči v průběhu typického ovulačního cyklu. Přerušovaná červená čára značí dny menstruace, zelená šipka termín ovulace



Obr. 2. Graf zobrazuje typický průběh koncentrace choriového gonadotropinu v moči v prvních dnech po implantaci. Čárkovaně je znázorněn 95% interval spolehlivosti



absorpčním pruhem, což zajišťuje průchod potřebného objemu vzorku všemi částmi testu.

Na testovací linii je fixována druhá protilátka proti zjišťovanému hormonu. Při průchodu testovací linií je touto protilátkou zachycen komplex hormonu s barevně značenou protilátkou, který se zde koncentruje a zbarví testovací linii.

Na kontrolní linii je fixována protilátka proti barevně značené protilátce. Při průchodu kontrolní linií je barevně značená protilátka, která se nevázá s hormonem, a nezůstala tak na testovací linii, zachycena a kontrolní linii zbarví.

Pokud je tedy přítomno detekovatelné množství hormonu, zbarví se testovací linie, jestliže je v proudící kapalině rozpuštěna barev-

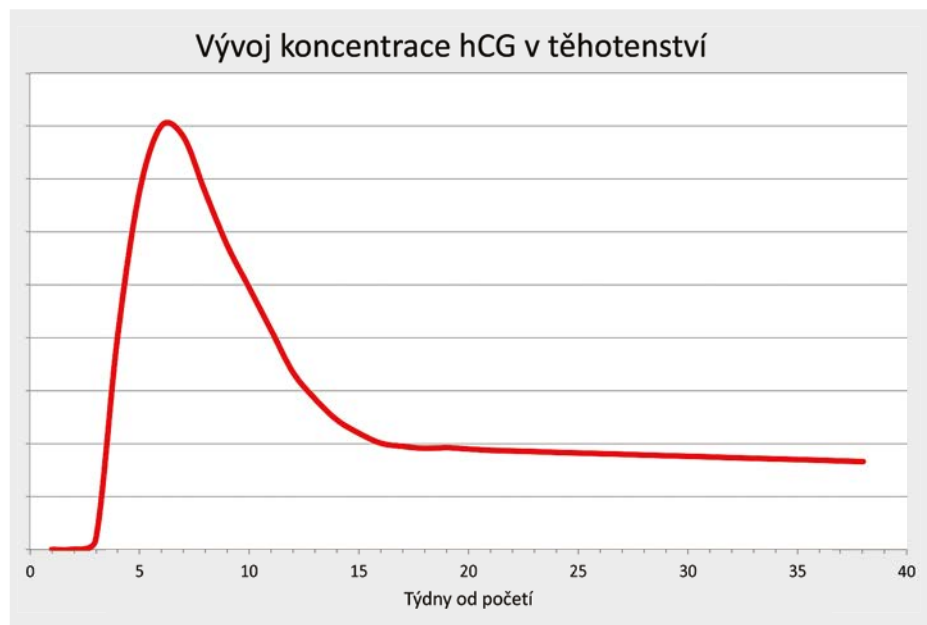
ně označená protilátka, zbarví se kontrolní linie. Když není přítomno detekovatelné množství hormonu, testovací linie se nezbarví. Když kapalná složka vzorku nerozpustí protilátku z konjuganční zóny nebo nedospěje až ke kontrolní linii, kontrolní linie se nezbarví.

Z uvedeného vyplývá, že test je platný, pokud je zbarvena kontrolní linie a pozitivní, pokud je zbarvena kontrolní i testovací linie. Pokud není zbarvena kontrolní linie, test je vždy neplatný a nelze jej hodnotit.

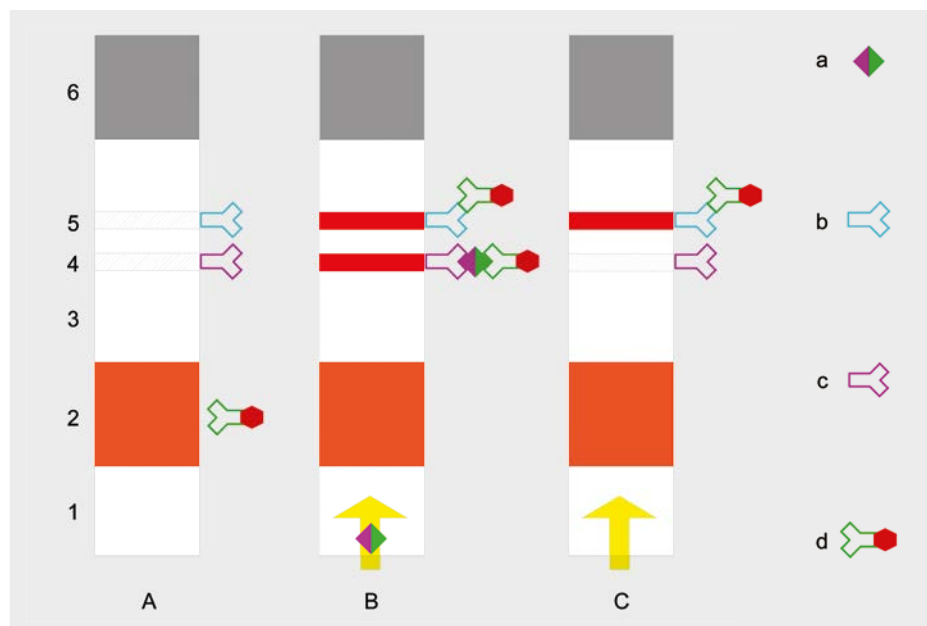
Jaké typy testů existují?

Existují čtyři základní typy močových testů, a to proužkové, tyčinkové, kazetové a digitální.

Obr. 3. Graf znázorňuje typický průběh koncentrace choriového gonadotropinu v průběhu těhotenství po implantaci. Čárkovane je znázorněn 95% interval spolehlivosti



Obr. 4. 1 – nasávací zóna, 2 – konjuganční zóna s rozpustnou označenou protilátkou, 3 – membrána s testovací a kontrolní linií, 4 – testovací linie, 5 – kontrolní linie, 6 – absorpční zóna
A – stav před použitím, B – stav s pozitivním vzorkem, C – stav s negativním vzorkem
a – molekula hormonu, b – vázaná protilátka proti značené protilátce, c – vázaná protilátka proti hormonu, d – volná označená protilátka proti hormonu



Proužkové testy jsou nejjednodušší, celý systém je nanesen na proužek filtračního papíru nebo plastu. U tyčinkových testů je podkladem plastová tyčinka a na ni je nanášena chromatografická vrstva, většinou jsou určeny pro nasátí vzorku v proudu moči. Kazetové testy mají chromatografický systém uložený v ochranném pouzdře, ze kterého vyčnívá jen část k nanášení vzorku.

Základní princip digitálních testů je stejný jako u předchozích, odečítání je zpřesněno

optoelektronickým systémem, který vyhodnotí testovací a kontrolní linii a na displeji zobrazí výsledek. Kromě spolehlivějšího odečtu je výhodou i automatické měření času průběhu testu. Pozitivní výsledek může být u digitálních těhotenských testů doplněn údajem o přibližném datu početí, vypočteném z intenzity zbarvení testovacího proužku. Existují digitální testy propojené pomocí bluetooth s mobilní aplikací, umožňující další zpracování a archivaci výsledků.

Krevní testy jsou podobné močovým testům kazetovým. Liší se vstupem, který je způsoben nasátím krevní kapky, a jsou doplněny filtrem oddělujícím krevní elementy od plazmy, která je podrobena analýze podobně jako moč v testech močových.

Všechny typy testu jsou určeny výlučně pro jedno použití. Do balení testů bývá vložena vysoušecí vložka, která chrání obsažené reagencie před znehodnocením.

Jednotlivé typy testů se liší cenou, nejlevnější bývají proužkové, nejdražší digitální.

Jak použít jednotlivé typy testu

U proužkového testu se papírek na několik sekund ponoří do vzorku moči (směr ponoření ukazují šipky a ryska udává maximální výši, do které smí být proužek do moči ponořen), potom je ve vodorovné poloze uložen na nenasavý povrch a moč vztlíná podél membrány a v průběhu několika minut se na proužku objeví výsledek.

U kazetového testu odebereme z kelímku s močí pipetou malé množství moči a několik kapek nakapeme do testovacího okénka, uložíme vodorovně a čekáme na výsledek testu.

Tyčinkový test po sejmutí ochranného krytu vložíme do středního proudu moči a počkáme na výsledek testu. Není třeba použít odběrový kelímek.

Jak postupovat při detekci ovulace

Detekce ovulace je semikvantitativním testem, určíme, zda došlo k podstatnému zvýšení koncentrace luteinizačního hormonu oproti předchozím dnům. Koncentrace luteinizačního hormonu v moči je ovlivněna jednak jeho produkcí v hypofýze, která je nejvyšší v brzkých ranních hodinách, jednak stupněm koncentrace moči, která je nejvyšší v ranní moči, jejíž vyšetření by mohlo dát falešně pozitivní výsledek. Výsledek testu může ovlivnit i nadměrný nebo nedostatečný příjem tekutin. Z tohoto důvodu se doporučuje pít naposledy 2 hodiny před testováním, test provádět vždy ve stejnou dobu, a to mezi 10. a 20. hodinou. Test by měl proběhnout bezprostředně po odběru moči, je třeba preferovat ponoření příslušné části testu do moči odebrané do čisté a suché nádoby před smáčením proudem moči, které bývá zdrojem chyb. Test je třeba

odečíst za dobu určenou v návodu k použití, neodečítat dříve ani později.

Při provádění ovulačního testu je třeba při zahájení testování brát v úvahu obvyklou délku menstruačního cyklu u dané ženy. Čím je cyklus delší, tím později zahajujeme testování. První den testování určíme, když od průměrné délky cyklu testující ženy odečteme 16 nebo pro větší jistotu 18, když tedy je například cyklus průměrně dlouhý 30 dní, testování zahájíme 14. nebo lépe 12. den po začátku menstruace. Je třeba vzít v úvahu, že vajíčko je schopno oplození nejvýše 24 hodin po ovulaci, zatímco životnost spermií je delší. Je proto dobré, když v době ovulace jsou spermie přítomny ve vejcovodu.

Je třeba srovnávat intenzitu zbarvení testovací a kontrolní linie, zbarvení má být srovnatelné. Pokud je testovací linie méně zřetelná, než kontrolní, neznamená to detekci vlny LH.

Falešná pozitivita může být způsobena podáváním léků obsahujících exogenní luteinizační hormon, který bývá součástí některých hormonálních přípravků používaných k indukci ovulace. Falešně pozitivní může nálezn být u těhotné ženy nebo u ženy v klimakteriu.

Ovulační test není určen pro detekci neplodných dnů, a nehodí se tedy pro účely antikoncepce.

Jak postupovat při detekci těhotenství

Detekce těhotenství je kvalitativním testem, určujeme, zda je přítomno detekovatelné množství choriového gonadotropinu, který za fyziologických podmínek je u netěhotné ženy přítomen jen v nepatrné koncentraci.

Koncentrace choriového gonadotropinu v moči je ovlivněna jednak jeho produkcí v trofoblastu embrya, která záleží na stádiu zárodku, jednak stupněm koncentrace v moči, která je nejvyšší v ranní moči. Výsledek testu může na samém začátku těhotenství částečně ovlivnit nadměrný příjem tekutin. Na rozdíl od ovulačních testů není doba vyšetření kritická, citlivost je možné zvýšit vyšetřením ranní moči.

Test by měl proběhnout nejlépe ve dnech, kdy se nedostavila očekávaná menstruace. Testujeme bezprostředně po odběru moči, je třeba preferovat ponoření příslušné části testu do moči odebrané do čisté a suché nádoby před smáčením testu proudem moči, které bývá zdrojem chyb. Test je třeba odečíst za dobu určenou v návodu k použití, neodečítat dříve ani později.

Pozitivitu testu indikuje zřetelné zbarvení testovací linie a současné zbarvení linie kontrolní. Pokud není výsledek zcela zřetelný, je vhodné test opakovat za 48 hodin.

Falešná pozitivita může být způsobena podáváním léků podporujících udržení žlutého tělíska obsahujících exogenní choriový gonadotropin. Falešně pozitivní může nálezn být také u pacientů s některými nádorovými onemocněními, prakticky nikdy nevyvolá falešnou pozitivitu nezhoubná cysta vaječníku. Falešně negativní může být test zejména tehdy, když je proveden příliš brzo. Nejsou ojedinělé případy, kdy žena má jasně pozitivní test a po kratší či delší době zjistí, že test je negativní. To je známkou časné těhotenské ztráty, v období krátce po implantaci embrya zanikne asi 25 % těhotenství. Je důležité

navštívit bez odkladu lékaře, pokud je těhotenský test pozitivní nebo jeho pozitivita přetrvává po potratu nebo revizi děložní dutiny.

Co ovlivňuje citlivost a spolehlivost testů?

Především je to kvalita výrobku. Testy se mimo jiné liší podle typu použitých protilátek. Optimální výsledky dává použití primární protilátky proti beta podjednotce příslušného hormonu. U řady testů není bližší specifikace protilátky uvedena, někteří výrobci testů dokonce uvádějí, že používají protilátky proti alfa podjednotce, což není z hlediska specifity a spolehlivosti testu optimální.

Pro in vitro diagnostické prostředky určené k samotestování platí speciální podmínky k udělení značky CE. Značka CE u těchto prostředků musí být vždy doplněna indexem s číslem notifikované osoby, která značku CE udělila, jinak je značka neplatná. Značka je udělována na dobu určitou, po skončení platnosti by neměl být prostředek distribuován.

Exspirace a skladovací podmínky mohou ovlivnit senzitivitu testu. Obecně je doporučena skladovací teplota v rozmezí 4–30 °C a suché prostředí.

Pečlivost provedení testu je kritická, výsledky testu provedené laiky a zdravotnickými pracovníky se liší, chyby u laiků dosahovaly podle typu testu až 40 % (5). Příčinou chyb bývá nedostatečné seznámení se s návodem výrobce nebo nedbání jeho pokynů, předčasné provedení, nedbalost v odečítání testu. Nejnížší chybovost byla zjištěna u některých digitálních testů, kde se spolehlivost blíží deklarovaným 99 %.

LITERATURA

1. Kerin J. Ovulation detection in the human. Clin Reprod Fertil. 1982; 1(1): 27–54.
2. Roos J, Johnson S, Weddell S, Godehardt E, Schiffner J, Freundl G, Gnath C. Monitoring the menstrual cycle: Comparison of urinary and serum reproductive hormones referenced to true ovulation. Eur J Contracept Reprod Health Care. 2015; 20(6): 438–450.

- doi: 10.3109/13625187.2015.1048331. Epub 2015 May 27.
3. Nepomnaschy PA, Weinberg CR, Wilcox AJ, Baird DD. Urinary hCG patterns during the week following implantation. Human Reproduction Vol.23, No.2 pp. 271–277, 2008 doi:10.1093/humrep/dem397.
4. Sajid M, Kawde AN, Daud M. Designs, formats and applica-

- tions of lateral flow assay: A literature review. J. Saudi Chem. Soc. 2015; 19: 689–705.
5. Gnath C, Johnson S. Strips of Hope: Accuracy of Home Pregnancy Tests and New Developments. Geburtshilfe Frauenheilkd. 2014; 74(7): 661–669. doi: 10.1055/s00341368589. PMID: PMC4119102.