

بررسی B-hCG سرويکواژینال در

پیشگویی زایمان زودرس

نویسندگان: دکتر نجمه تهرانیان*^۱، مینو رنجبر^۲، دکتر انوشیروان کاظم‌نژاد^۳ و دکتر سعیده ضیایی^۴

۱. مربی گروه مامایی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

۲. کارشناسی ارشد گروه مامایی، دانشگاه تربیت مدرس

۳. دانشیار گروه آمار حیاتی، دانشگاه تربیت مدرس

۴. دانشیار گروه مامایی، دانشگاه تربیت مدرس

نویسنده مسئول: E-mail: N_Tehranin@yahoo.com

چکیده

هدف: هدف از این مطالعه بررسی ارتباط سطح β hCG ترشحات سرویکواژینال و زایمان زودرس می‌باشد.

روش کار: نوع مطالعه این پژوهش مقطعی مقایسه‌ای است. در این مطالعه از ۶۰ زن مراجعه‌کننده با نشانه‌های دردهای زودرس زایمانی و ۲۷ زن با حاملگی سالم به درمانگاه‌های اورژانس و مامایی با سن حاملگی ۲۴ تا ۳۶ هفته و ۶ روز نمونه‌گیری از ترشحات سرویکواژینال به عمل آمد. موارد پارگی زودرس کیسه آب، پلی‌هیدروآمنیوس، خونریزی و ترشحات خونی، مقاربت و استفاده از لوبریکانت یا کرم واژینال طی ۲۴ ساعت گذشته، اعتیاد به سیگار، ابتلا مادر به بیماری‌های سیستمیک، ابتلا به هیپرتانسیون حاملگی یا پره‌اکلامپسی، سابقه کیست تخمدان، ابتلا به کوریو آمینیونیت، استفاده از کورتیکواستروئیدها هنگام نمونه‌گیری، وجود آنومالی‌های جنینی، محدودیت رشد جنین و دیلاتاسیون بیش‌تر از ۳ سانتی‌متر از مطالعه حذف گردیدند. نمونه به‌دست آمده در یخچال نگهداری و به آزمایشگاه منتقل و طی ۷۲ ساعت مورد آزمایش قرار گرفت و سپس بیماران از نظر وقوع زایمان زودرس پیگیری شدند.

نتایج: این پژوهش نشان داد که میانگین سطح B-hCG ترشحات سرویکواژینال در گروه I (لیبرو زایمان زودرس یا حقیقی) (24 mIU/ml) بالاتر از گروه II (لیبر زودرس و زایمان سر موعد یا کاذب) ($17/44 \text{ mIU/ml}$) و گروه III (سالم) ($10/02 \text{ mIU/ml}$) می‌باشد. بین متغیرهای افسانمان سرویکس، شدت انقباضات و فاصله نمونه‌گیری تا زمان زایمان و مقدار β hCG ترشحات سرویکواژینال نیز اختلاف معناداری بین سه گروه وجود دارد. آنالیز منحنی ROC نشان داد که سطح β hCG ترشحات سرویکواژینال مساوی یا بیش‌تر از $22/5$ میلی‌واحد در میلی‌لیتر با زایمان زودرس همراه است (حساسیت ۹۷ درصد، ویژگی ۷۶ درصد، ارزش پیشگویی مثبت و منفی ۸۱ و ۹۶ درصد). مقدار بحرانی برای گروه‌های II و III، ۱۸ میلی‌واحد در میلی‌لیتر (با حساسیت ۴۸ درصد، ویژگی ۹۳ درصد، ارزش پیشگویی مثبت و منفی ۸۷ درصد و ۶۲ درصد) است.

واژه‌های کلیدی: B-hCG ترشحات سرویکواژینال، زایمان زودرس، زایمان سر موعد

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال دوازدهم - شماره ۵۸
شهریور ۱۳۸۴

تاریخ وصول: ۸۲/۶/۱۵
تاریخ پذیرش: ۸۳/۵/۲۰

مقدمه

زایمان زودرس از مهم‌ترین علل مورتالیتی و موربیدیتی پره‌ناتال در دنیا محسوب می‌شود. علی‌رغم پیشرفت‌های عمده در مراقبت‌ها و اداره دوران بارداری و نوزادی، میزان نارسی در طول دو دهه اخیر کاهش نیافته است. تشخیص زایمان زودرس به‌طور سنتی بر مبنای علائم بالینی، شامل وجود سابقه زایمان زودرس، علائم، و معاینات بالینی است که ارزش کمی در پیشگویی زایمان زودرس خودبه‌خودی دارد [۲۰]. تعدادی نشانگر کلینیکی و بیوشیمیایی برای پیشگویی زایمان زودرس پیشنهاد شده است [۶-۳]. در بسیاری از مطالعات، اندازه‌گیری فیبرونکتین جنینی به‌طور سریال یا در سن خاصی از بارداری به‌عنوان یک پیشگویی‌کننده مناسب مطرح شده [۸، ۷، ۵، ۱] که البته میزان حساسیت، ویژگی، و ارزش تشخیص مثبت و منفی آن در مطالعات مختلف، متفاوت گزارش شده و در برخی از آنها از حد مناسب کم‌تر است.

گوناودتروپین جفتی انسانی (hCG)، در سرم و مایع آمنیوتیک مادری، احتمالاً ناشی از انتشار مستقیم hCG از جفت در دوران بارداری است [۹]. پیشنهاد گردیده که سطح hCG در مایع واژینال می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر مفید در موارد پارگی زودرس پرده آمنیوتیک در سه ماهه دوم و سوم بارداری محسوب شود [۱۰]. برنشتاین (Bernstein) و همکاران او در تحقیق خود، میزان حساسیت آن را کم‌تر از فیبرونکتین جنینی و میزان ویژگی و ارزش تشخیص مثبت و منفی آن را در پیشگویی زایمان زودرس، مشابه آن گزارش کرده‌اند [۹]. موسوی و همکارانش، در تحقیقی راجع به بررسی استرایول بزاق در پیشگویی زایمان زودرس، میزان حساسیت و ویژگی و ارزش تشخیص مثبت و منفی آن را در پیشگویی زایمان زودرس کم‌تر از B-hCG سرویکوواژینال به دست آورده‌اند [۱۱]. هدف از این تحقیق، ارزیابی ارزش پیشگویی B-hCG سرویکوواژینال در زایمان زودرس خودبه‌خودی در بیماران با زایمان زودرس و مقایسه آن با بارداری طبیعی است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، یک مطالعه مقطعی مقایسه‌ای است. در این مطالعه ۳۱ بیمار پذیرش شده در بیمارستان‌های ۲۹ بهمن، الزهرا و طالقانی دانشگاه علوم پزشکی تبریز در فواصل زمانی شهریور تا دی ماه سال ۱۳۸۱ با تشخیص زایمان زودرس با پرده‌های جنینی سالم و ۵۶ نفر با بارداری طبیعی مورد بررسی قرار گرفتند. شرکت‌کنندگان در این تحقیق دارای سن بارداری ۳۶-۲۴ هفته کامل بودند و پس از دادن اطلاعات کامل و تمایل به شرکت در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند. تخمین سن بارداری، براساس اولین روز قاعدگی (L.M.P) و در صورت تردید، به‌وسیله اولتراسونوگرافی انجام پذیرفت و در صورت مغایرت و تفاوت بیش از ۱۰ روز بین تاریخ براساس LMP و اولتراسونوگرافی، مبنای کار، سن اعلام شده از طریق سونوگرافی، معیار تشخیص سن بارداری قرار می‌گرفت.

مشخصات افراد مورد مطالعه عبارت بود از:

۱. بارداری تک‌قلویی تأیید شده از طریق اولتراسونوگرافی انجام شده در تریمستر دوم،
۲. سن بارداری بین ۳۶-۲۴ هفته بارداری،
۳. دیلاتاسیون کم‌تر از ۳Cm،
۴. پرده آمنیوتیک سالم (به‌عنوان مثال بدون نشت و ریزش آشکار مایع آمنیوتیک و آزمایش منفی نیتراژین و فرن تست)،
۵. فقدان مشکلات مادری و جنینی در زمان پذیرش و در طول بارداری.

مشخصاتی که سبب حذف از مطالعه می‌گردید عبارت بود از:

۱. آنومالی‌هایی مادرزادی جنینی،
۲. پلاستاپرویا،
۳. خونریزی واژینال،
۴. فشارخون تشدید شده با بارداری،
۵. محدودیت رشد جنینی،
۶. دیسترس جنینی،

۷. بارداری چندقلو

۸. پارگی زودرس پرده‌های جنینی،

۹. کلیه شرایطی که روی غلظت β -hCG سرويکوواژینال تأثیر می‌گذارد. هیچ‌یک از بیماران در زمان نمونه‌گیری داروهای توکولیتیک دریافت نکرده بودند. در گروه زایمان زودرس، وجود کنتراکشن‌های رحمی با تعداد ۴ مورد در ۲۰ دقیقه یا ۸ مورد در یک ساعت، همراه با تغییرات در افسمان و دیلاتاسیون سرویکس $<3\text{cm}$ به‌عنوان زایمان زودرس تعریف شده بود. گروه بارداری طبیعی، شامل زنانی بدون علائم ذکر شده برای زایمان زودرس بود که با پیگیری در طول بارداری به‌عنوان یک بارداری طبیعی محسوب می‌گردید. قبل از انجام معاینات واژینال، نمونه ترشح سرويکوواژینال پس از گذاردن اسپوکولوم گرفته می‌شد که این روش مطابق سایر تحقیقات انجام شده در این باره است [۱۲و۹]. ابتدا یک سی‌سی سی‌سی نرمال سالین به داخل واژن ریخته می‌شد. پس از ۳۰ ثانیه یک سی‌سی از ترشحات موجود واژن به وسیله یک سرنگ کشیده و به داخل یک لوله آزمایش ریخته می‌شد. تمامی نمونه‌ها قبل از تجویز داروهای توکولیتیک گرفته می‌شد.

این نمونه‌ها در یخچال نگهداری می‌گردید تا اندازه‌گیری هورمون در حد فاصل ۲۴ ساعت از نمونه‌گیری انجام پذیرد. برای اندازه‌گیری هورمون ابتدا سانتریفوژ محلول با دور $1000 \times g$ برای ۱۰ دقیقه برای جداسازی سوپرناتانت (Supernatant) انجام می‌شد. سپس محلول باقیمانده از نظر میزان β -hCG اندازه‌گیری می‌شد. اندازه‌گیری میزان β -hCG با روش رادیوایمنوآسی با استفاده از کیت (Immunotech czech) انجام گرفت. واحد اندازه‌گیری براساس mIU/ml گزارش گردید. حساسیت ارزیابی کم‌تر از ۱ IU/L بود. دقت ایترآ آسی (Intra-assay) و ایترآ آسی (Inter assay) متغیر کم‌تر از ۷ درصد بود. بیماران تا زمان زایمان پیگیری می‌شدند. متغیرهای بررسی شده عبارت بودند از: سن و تعداد زایمان در زمان نمونه‌گیری و سن بارداری در زمان پذیرش و زایمان، فاصله زمانی بین نمونه‌گیری و زایمان و سطح β -hCG سرويکوواژینال.

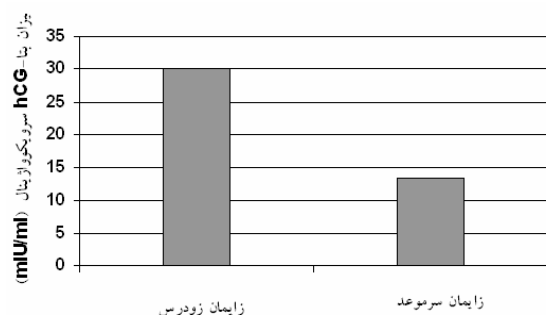
نتایج

از بیماران مراجعه‌کننده با دردهای زودرس زایمانی، ۳۱ نفر دچار زایمان زودرس شدند و ۵۶ نفر از آن‌ها در زمان ترم زایمان کردند. جدول ۱ مشخصات دموگرافیک و مامایی زنان دارای زایمان زودرس حقیقی و بارداری نرمال را نشان می‌دهد. در جدول مشخصات از نظر آماری اختلاف معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه از نظر سن مادر، تعداد بارداری، سن بارداری در زمان پذیرش مشاهده نمی‌شود. تنها از نظر سن بارداری در زمان زایمان و فاصله نمونه‌گیری تا زایمان اختلاف معنادار است (جدول ۱).

شکل ۱ میزان β -hCG ترشحات سرويکوواژینال را در زنان با زایمان زودرس حقیقی و بارداری نرمال نشان می‌دهد.

مقدار متوسط β -hCG برای زایمان زودرس حقیقی $11/58 \pm 30/20$ (mIU/ml) و $13/25 \pm 14/54$ (mIU/ml) برای بارداری طبیعی به‌دست آمد که همان‌طور که مشاهده می‌شود، به‌طور معنادار در گروه زایمان زودرس بیش‌تر از بارداری طبیعی است ($p < 0/0001$). منحنی ROC برای تعیین نقطه بحرانی (Cut-off) هورمون β -hCG در گروه زایمان زودرس و مقایسه آن با بارداری طبیعی مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲).

در آنالیز منحنی (۱) ROC، حداکثر نقطه بحرانی (Optimal cut-off) برای β -hCG (۱۸mIU/ml) دارای حساسیت ۱۰۰ درصد، ویژگی ۹۳ درصد (C.I. ۹۵٪: ۹۹/۶-۸۶/۴) با ارزش تشخیص مثبت و منفی



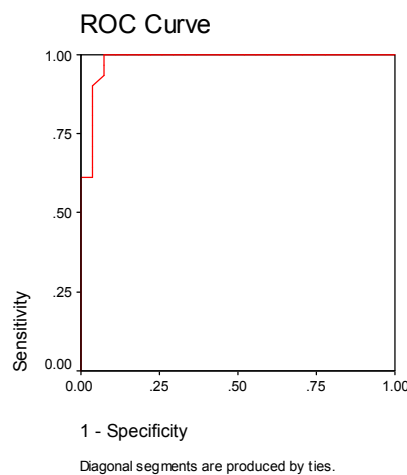
شکل ۱: مقادیر β -hCG ترشحات سرويکوواژینال در بیماران با زایمان زودرس و سرموعده $p < 0/0001$

جدول ۱: مقایسه مشخصات دموگرافیک گروه زایمان زودرس و سالم

| مشخصات | | مورد (زایمان زودرس) | شاهد (سالم) |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------|-------------------|
| سن مادر (سال) \pm SD | | ۲۴/۴۵ \pm ۴/۲۳ | ۲۴/۵۷ \pm ۵/۲۴ |
| تعداد زایمان | نولی پار (درصد) | ۱۴ (۴۵/۲٪) | ۳۱ (۵۵/۴٪) |
| | مولتی پار (درصد) | ۱۷ (۵۴/۸٪) | ۲۵ (۴۴/۶٪) |
| سن بارداری در: | زمان پذیرش (هفته) \pm SD | ۳۱/۴۵ \pm ۴/۷۲ | ۳۱ \pm ۳/۷۴ |
| | زمان زایمان (هفته) \pm SD | ۳۲/۱۰ \pm ۳/۶ | ۳۹/۱۰ \pm ۱/۲۵ |
| فاصله نمونه گیری تا زایمان \pm SD | | ۶/۷۷ \pm ۶/۸۷ | ۵۷/۷۱ \pm ۲۵/۹۲ |

لحاظ قدرت پیشگویی دارای ضعیف است [۱۴]. در مطالعه حاضر، ارزش تشخیص β -hCG ترشحات سرویکوواژینال برای پیشگویی زایمان زودرس در زنان دچار زایمان زودرس و بارداری نرمال مورد ارزیابی قرار گرفته است. چنین مطالعه‌ای تاکنون در این گونه بیماران در ایران گزارش نشده است.

HCG که در جفت تولید می‌شود با غلظت بالایی در مایع آمنیوتیک و سرم مادری در طول بارداری وجود دارد. در ابتدای بارداری، سطوح hCG مایع آمنیوتیک مشابه سطوح سرمی آن است و سپس میزان آن تا ۲۰ درصد سطح سرمی مادری کاهش یافته و همین الگو را در ادامه بارداری حفظ می‌کند [۱۵]؛ اما از زمان لقاح غلظت آن در سرم مادری و مایع آمنیوتیک افزایش یافته، در هفته ۱۲-۸ بارداری به حداکثر رسیده، سپس به یک حد ثابت می‌رسد و تقریباً در هفته ۱۸ بارداری کاهش یافته، در بقیه دوران بارداری در همین حد باقی می‌ماند. میانگین غلظت β -hCG گزارش شده در مایع آمنیوتیک و سرم در طی مرحله ثابت آن تقریباً ۲۰۰۰ و ۱۱۸۰۰ mIU/ml است [۱۲]. اخیراً در دیگر کشورها سطوح β -hCG در ترشحات سرویکوواژینال زنان باردار مورد بررسی قرار گرفته است [۹]. در زنانی با سطوح افزایش یافته B-hCG در ترشحات سرویکوواژینال، منابع آن، مایع آمنیوتیک و سرم مادری است. مولکول β -hCG به دلیل اندازه‌اش به‌طور انتخابی از عرض پرده‌های جنین عبور می‌کند، بدون آن که خروج آب و سایر مولکول‌ها، متعاقب آن از مایع



شکل ۲: اختلاف معناداری از نظر آماری در کل در مورد سطح زیرمنحنی ROC برای β -hCG مشاهده نشد.

۹۴ و ۱۰۰ درصد بود که می‌توانست زایمان زودرس را از موارد بارداری نرمال تفکیک کند (شکل ۲).

بحث و نتیجه گیری

پیشگیری از زایمان زودرس، بستگی به شناخت مکانیسم‌های اصلی زایمان زودرس دارد. در این خصوص، استفاده از آزمایش‌های غربالگری که توان تعیین بارداری‌های پرخطر را دارد، ضروری به‌نظر می‌رسد. غربالگری از طریق تعیین و نمره‌گذاری فاکتورهای کلینیکی برای زایمان زودرس انجام می‌شده است [۱۳]. استفاده از روش نمره‌گذاری فاکتور خطر نه تنها از نظر تشخیص بلکه از نظر پیشگویی نیز ضعیف است. و به علاوه هم از نظر قدرت تشخیص و هم به

این اختلاف زیاد ناشی از تفاوت میزان طبیعی هورمون‌ها در نژادها و مناطق جغرافیایی است که به علت قرابت بیش تر با کشورهای منطقه این نزدیکی در میزان β -hCG cut-off کاملاً مشهود است. از نظر میزان حساسیت، ویژگی و ارزش پیشگویی مثبت و منفی، تحقیق حاضر در مقایسه با دو تحقیق گزارش شده، در مجموع، شباهت بیشتری با تحقیق گونال دارد که شاید به علت مشابهت نمونه‌های مورد بررسی و روش کار بوده و علت تفاوت با تحقیق برنشتاین تفاوت در جمعیت مورد مطالعه او بوده که صرفاً محدود به افراد پرخطر برای زایمان زودرس است. علاوه بر آن، تفاوت در روش تحقیق و نیز تفاوت در مشخصات واحدهای مورد پژوهش از عوامل دیگر تفاوت در حساسیت، ویژگی و ارزش پیشگویی مثبت و منفی است.

این مطالعه نشان داد که میزان β -hCG در سن بارداری ۲۴-۳۶ هفته با اطمینان بالایی می‌تواند موارد زایمان زودرس را از موارد بارداری طبیعی تفکیک کرده، روش مناسبی برای پیشگویی موارد زایمان زودرس باشد و به عنوان یک تست پیشگویی کننده ارزان، آسان و بدون هرگونه صدمه‌ای برای بیمار به کار رود.

منابع

1. Lockwood CL., Senyei AE., Dische MR., Casal D., Shah KD., Thung SN et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. N. Engl. J. Med. 1991; 325:669-674.
2. Creasy RK., Merkatz IR. Prevention of preterm birth: Clinical opinion. Obstet. Gynecol. 1990; 76(1suppl): 25-45.
3. Mclean M., Bisits A., Davies J., Walters W., Hackshaw A, De Voss K et al. Predicting hormone risk of preterm delivery by second trimester measurement of maternal plasma corticotropin releasing hormone and alpha-fetoprotein concentrations. Am.J. Obstet. Gynecol. 1999; 181: 207-215.
4. Heine RP., McGregor JA., Goodwin TM., Artal R., Hayashi RH., Robertson PA et al. Serial salivary estriol to detect an increased risk of preterm birth. Obstet. Gynecol. 2000; 4:490-497.
5. Leitich H., Egarter C., Kaidler A., Hohlagschwandtner M., Berghammer P., Husslein P. Cervicovaginal fetal fibronectin as a marker for preterm birth: a meta-analysis. Am.J. Obstet. Gynecol. 1999; 180:1169-1176.

آمیونیک اتفاق بیفتد؛ مشابه مکانیسم آزادی فیبرونکتین جنینی به داخل ترشحات سرویکوواژینال. یک توضیح احتمالی دیگر برای آن ممکن است ناشی از فرایند التهابی باشد که قبل از شروع دردهای زودرس زایمانی اتفاق می‌افتد و باعث آزاد شدن β -hCG از سرم مادر به ترشحات سرویکوواژینال می‌شود [۱۲و۹].

برخی محققین از جمله برنشتاین و همکارانش [۹] سطوح β -hCG ترشحات سرویکوواژینال را در بیمارانی که دارای یک فاکتور خطر برای زایمان زودرس بودند هفته ۲۸-۲۴ بارداری مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه آن‌ها میزان β -hCG cut-off سرویکوواژینال > 50 mIU/ml گزارش گردید. بر طبق این cut-off حساسیت، ویژگی و ارزش پیشگویی مثبت و منفی برای پیشگویی زایمان قبل از هفته ۳۴ بارداری عبارت بود از: ۵۰، ۸۷، ۳۳ و ۹۳ درصد. در مطالعه گونال (Guvenal) و همکاران او [۱۲] میزان β -hCG cut-off سرویکوواژینال ۲۸ mIU/ml در هفته ۲۴-۳۶ بارداری به دست آمد که این میزان cut-off دارای حساسیت، ویژگی و ارزش پیشگویی مثبت و منفی ۸۷، ۶۵، ۲۸ و ۹۷ درصد برای پیشگویی زایمان زودرس بود. در تحقیق حاضر، میزان cut-off ترشحات سرویکوواژینال برای پیشگویی زایمان زودرس ۱۸ mIU/ml، و میزان حساسیت، ویژگی و ارزش پیشگویی مثبت و منفی برای Cut-off به ترتیب عبارت بود از: ۹۳، ۹۴ و ۱۰۰ درصد.

در سایر تحقیقات انجام شده، همان گونه که مشاهده می‌شود میزان Cut-off و ارزش پیشگویی کننده β -hCG برای تفکیک موارد زایمان زودرس از بارداری طبیعی برآورد گردید که در مقایسه مقادیر گزارش شده در آن تحقیقات با تحقیق حاضر، مشاهده می‌شود میزان β -hCG cut-off در این تحقیق قرابت بیشتری با میزان به دست آمده در تحقیق گونال [۱۲] دارد که ۲۸ mIU/ml است و به کشور ترکیه مربوط است، در حالی که با cut-off اعلام شده به وسیله برنشتاین [۹] > 50 mIU/ml متفاوت است که مربوط به کشورهای غربی است. شاید

۱۱. موسوی س. تهرانیان ن. کاظم نژاد آ. "بررسی استریول بزاق در پیشگیری زایمان زودرس". پایان نامه کارشناسی ارشد مامایی. دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۰.
12. Guvenal T., Kantas E., Erselcan T., Culhaoglu; Cetin A. Beta- human chorionic gonadotropin and prolactin assays in cervicovaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *Int J. Gynecol. & Obstet.* 2001; 75: 229-234.
 13. Wong DL., Perry ShE., Hockenbery MJ., Lowdermilk DL. *Maternal child nursing care.* Vol.2: USA: Mosby 2002; 410-417.
 14. Mclean M., Walters W; Smith R. Prediction and early diagnosis of preterm labor: a critical review. *Obstet. Gynecol. Surv.* 1993; 48: 209-225.
 15. Ogren L. and Talamentes F. The placenta as an endocrine organ: polypeptides In: Knobil E; Neill JD editors. *The physiology of reproduction.* 2nd ed New York: Raven press 1994. p.875.
 6. Mou SM., Sunderji SG., Gall S., How H., Patel V., Gray M. et al. Multicenter randomized clinical trial of home uterine activity monitoring for detection of preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 165: 858-866.
 7. Lockwood CY., Wein R., Lapinski R., Casal D., Berkowitz G., Alvarez M et al. The presence of cervical and vaginal fetal fibronectin predicts preterm delivery in an inner city obstetric population. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1993; 169: 798-804.
 8. Iams JD., Cansal D., McGregor JA., Goodwin TM., Kreaden US., Lowensohn R et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1995; 173: 141-145.
 9. Bernstein PS., Stern R., Lin N., Furgiuele J., Karmen A., Comerford-freda M et al. Beta -human chorionic gonadotropin in cervicovaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 179: 870-873.
 10. Anai T., Tanaka Y., Hirota Y., Miyakawa I. Vaginal fluid hCG levels for detecting premature of membranes. *Obstet. Gynecol.* 1997; 261-264.