

RIVM rapport 199101008/2003

**Down syndroom risicoschatting in het eerste trimester
door bepaling van PAPP-A en vrij β -hCG in serum**

P.C.J.I. Schielen, L.H. Elvers, J.G. Loeber

Met medewerking van M.J. Altena, I. Belmouden, G.A.M. Diependaal en M. Jonker.

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie Gezondheidszorg, Ministerie van VWS, Postbus 20350, 2500 EJ Den Haag in het kader van project V/199101, Down Syndroom.

ABSTRACT

The Dutch Health Council's report on Prenatal screening for Down's syndrome, neural tube defects and routine echoscopy (Dutch language) propagated the evaluation and implementation of new methods of risk estimation for Down's syndrome. The evaluation of these new methods is explicitly one of the aims of the current RIVM-project on Down's syndrome risk estimation.

As method of choice, a risk estimation method based on PAPP-A and f β -hCG levels in the maternal circulation in the first trimester of pregnancy was selected. In combination with the measurement of the thickness of an echographically distinct area in the neck of a foetus, measured between week 10-14 of pregnancy (nuchal translucency thickness), this method provides a risk estimation for Down's syndrome pregnancies with a high detection rate for a low false positive rate.

Pivotal in this kind of risk estimation are an accurate detection method for PAPP-A and f β -hCG. Moreover, modelled median values per day of gestation are needed for the actual risk calculation

To acquire these, we co-operated with three Amsterdam hospitals. These hospitals were familiar with the application procedures for Down's syndrome risk estimation through their participation in the RIVM second trimester ('triple test') program for Down's syndrome risk estimation. Moreover, they had a keen interest in acquiring a possibility for first trimester serum analysis and risk estimation. About 340 samples of well-described pregnancies were obtained. In these samples, PAPP-A and f β -hCG concentrations were determined by the AutoDelfia method. Using these concentrations, a mathematical relationship was determined between the gestational age and both PAPP-A and f β -hCG. To check whether these relationships were adequate, they were compared to those obtained from a larger dataset of another laboratory that used the same detection method. The median concentrations per week of pregnancy were compared to those of a second external study. Finally, using the established equations, concentrations of samples of an external quality control program were transferred into so-called multiple-of-the-median values and compared to the target values of the quality control program.

All data together indicated that the modelled median concentrations of this study are fit to use in a first trimester risk estimation procedure.

SAMENVATTING

Het Gezondheidsraadrapport 'Prenatale screening. Down syndroom, neuralebuisdefecten, routine-echoscopie' (1) laat nadrukkelijk ruimte voor het evalueren van nieuwe methoden voor de schatting van het risico op een zwangerschap van een kind met Down syndroom. Het onderzoeken van dergelijke nieuwe methoden is ook één van de expliciete onderzoeksvragen van het onderhavige project. Vooral vanwege de verwachte hoge detectiegraad is gekozen voor het nader uitwerken van een risicoschattingmethode gebaseerd op een meting van de nekplooi bij de foetus in week 10-14 van de zwangerschap (Eng: nuchal translucency thickness; NT), in combinatie met de meting van pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) en de vrije β subunit van humaan choriongonadotropine ($f\beta$ -hCG) in het bloed van de moeder in het eerste trimester van de zwangerschap.

Voor het operationeel maken van deze methode dienen allereerst betrouwbare mediane concentraties (normaalwaarden) per zwangerschapsdag vastgesteld te worden. Dit gebeurde in samenwerking met het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis (OLVG), het Academisch Medisch Centrum (AMC), en het ziekenhuis van de Vrije Universiteit (VUMC) in Amsterdam, die eerste trimester sera konden aanleveren. In deze sera werden de concentratie PAPP-A en $f\beta$ -hCG bepaald met de AutoDelfia methode, die al routinematig gebruikt werd voor Down syndroom risicoschatting in het tweede trimester van de zwangerschap (de zgn. triple test). De PAPP-A en $f\beta$ -hCG metingen van de serummonsters afkomstig van het VUMC en eerder uitgevoerde bepalingen van het VUMC bleken overeen te komen. Ze werden daarom geïncorporeerd bij het modelleren van mediane concentraties.

Op basis van gegevens van 338 geanalyseerde sera werden mediane concentraties per zwangerschapsdag berekend. De mate van overeenkomst tussen de gevonden mediane concentraties per zwangerschapsweek en de gemodelleerde mediane waarden per zwangerschapsdag met beschikbare gegevens van andere laboratoria was acceptabel. De resultaten van deelname aan een extern kwaliteitscontroleprogramma voor PAPP-A en $f\beta$ -hCG waren eveneens acceptabel.

Geconcludeerd kan worden dat de bepaling van PAPP-A en $f\beta$ -hCG concentraties in het eerste trimester van de zwangerschap in combinatie met de gemodelleerde mediane concentraties per zwangerschapsdag geschikt is voor de risicoschattingen voor Down syndroom. Voor de verdere voorbereiding van het routinematig uitvoeren van deze risicoschattingen zullen logistieke aspecten en kwaliteitsbewaking worden uitgewerkt.

Inhoud

	Afkortingen	5
1.	Inleiding	6
2.	Materiaal en methoden	8
2.1	Sera	8
2.2	Bepaling van PAPP-A en f β -hCG in maternaal serum	8
2.3	Berekening van f β -hCG en PAPP-A MoM-waarden	8
3.	Resultaten	9
3.1	PAPP-A en f β -hCG; individuele serumanalyses	9
3.2	Mediane concentraties van PAPP-A en f β -hCG per zwangerschapsweek	12
3.3	Gemodelleerde medianen	13
3.4	Analyses van QC-monsters uit extern kwaliteitscontroleprogramma	15
4.	Discussie en conclusies	17
	Literatuur	19

Afkortingen

AFP	alfafoetoproteine
AMC	Academisch Medisch Centrum-Amsterdam
CVS	vlokkentest
f β -hCG	vrije β subunit van humaan choriongonadotropine
GR	Gezondheidsraad
hCG	humaan choriongonadotropine
IDDM	insuline-afhankelijke diabetes mellitus
IGZ	Inspectie Gezondheidszorg
MoM	multiple-of-the-median
NT	nuchal translucency (nekplooi)
OLVG	Onze Lieve Vrouwe Gasthuis-Amsterdam
PAPP-A	pregnancy-associated plasma protein-A
uE3	onconjugueerd (vrij) oestriol
UKNEQAS	UKNEQAS for peptide hormones-Dept. Clinical Chemistry, Royal Infirmary, Edinburgh, Groot Brittanië
VUMC	Medisch Centrum Vrije Universiteit-Amsterdam
WBO	Wet Bevolkings Onderzoek

1. INLEIDING

Het Gezondheidsraad (GR) rapport 'Prenatale screening. Down syndroom, neuralebuis-defecten, routine-echoscopie' (1) vermeldt de triple test als de eerste test van keuze om toe te passen in een landelijk screeningsprogramma. Deze keuze is vooral gebaseerd op de ruime ervaring met deze test en de mogelijkheid van snelle invoering. Het GR-rapport onderkent dat de wetenschappelijke ontwikkeling op het gebied van risicoschattende testen voor Down syndroom zich in hoog tempo voltrekt. Het rapport reserveert daarom nadrukkelijk ruimte voor het onderzoeken van nieuwe technieken voor de risicoschatting voor Down syndroom.

Na de aanvankelijke ontdekking van de relatie tussen een Down syndroom zwangerschap en een lage concentratie van alfafoetoproteïne (AFP) in maternaal serum in het tweede trimester van de zwangerschap (2) heeft het wetenschappelijk onderzoek op het gebied van voorspellende parameters in maternaal serum zich in twee richtingen uitgebreid.

Er is gezocht naar andere parameters in maternaal serum die bij een Down syndroom zwangerschap afwijkende concentraties vertoonden. Dit leidde tot de ontwikkeling van de triple test. De triple test schat het risico op een Down syndroom zwangerschap op basis van de concentraties van AFP, ongeconjugerd (vrij) oestriol (uE3) en humaan choriongonadotropine (hCG) of de vrije β subunit van hCG (f β -hCG) in het tweede trimester van de zwangerschap. Deze test, waarover in ruime mate is gepubliceerd (3) wordt dan ook sinds 1989 toegepast.

Daarnaast is er gezocht naar parameters die in het eerste trimester van de zwangerschap (vóór de 15e week) voorspellend zijn voor een Down syndroom zwangerschap. Die bieden de mogelijkheid van vroege prenatale diagnostiek door een vlokcentest (CVS) en een eventuele beëindiging van de zwangerschap met een minder ingrijpende procedure.

De combinatie pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A; verlaagd bij een Down syndroom zwangerschap) en f β -hCG (verhoogd bij Down syndroom) bleek in het eerste trimester de meest geschikte voor een kansbepalende test (4, 5). In ongeveer dezelfde periode is ontdekt dat er een associatie was tussen het verdikt zijn van de nekplooi ('nuchal translucency'; NT) van een foetus en de kans op een Down syndroom zwangerschap (6, 7) en dat de NT-meting gebruikt kon worden voor een risicoberekening (8). Vervolgens is geopperd dat NT en eerste trimester serum parameters gecombineerd met het leeftijdsrisico een betere risicoschatting zouden kunnen opleveren dan de triple test (9, 10). Inmiddels is deze hypothese in een aantal prospectieve studies bevestigd (11, 12, 13).

Internationaal is er reeds een beweging ingezet waarbij de triple test als kansbepalende test langzamerhand wordt vervangen door de zgn. combined test, de eerste trimester test in combinatie met een NT-meting (14, 15). In Nederland is er in toenemende mate belangstelling voor de eerste trimester serumanalyse. Toch verricht alleen het Academisch Ziekenhuis Groningen sinds kort op kleine schaal routinematig eerste trimester serumanalyses. Daarnaast zijn er enkele initiatieven geweest in het kader van academische onderzoeksprojecten (zie hieronder).

Eén van de vraagstellingen van het onderhavige project betreft het verwerven van nieuwe methoden voor Down risicoschatting. In het licht van het bovenstaande werd daarom ingezet op het verwerven van een risicoschattingmethode op basis van de meting van PAPP-A en f β -hCG, om daarmee een met de NT-meting gecombineerde risicoschatting mogelijk te maken.

Voor kansbepalende testen op basis van parameters in maternaal serum dient een laboratorium te beschikken over betrouwbare referentiewaarden per zwangerschapsdag of week.

Deze normaalwaarden worden meestal bepaald door regressie-analyse op basis van meetgegevens van maternale sera afgenomen bij verschillende zwangerschapsduren. Aangenomen wordt dat 50-100 meetwaarden per zwangerschapsweek voldoende zijn om gemodelleerde normaal- of mediane concentraties per zwangerschapsdag betrouwbaar vast te stellen. Met deze gemodelleerde mediane concentraties kunnen vervolgens PAPP-A en f β -hCG concentraties in een serummonster afgenomen op een bepaalde zwangerschapsdag worden omgerekend in een voor de zwangerschapsduur genormaliseerde, zgn. MoM- (multiple-of-the-median) waarde.

Voor de triple test kan het RIVM vertrouwen op een database met duizenden gegevens om de normaalwaarden te bepalen. Voor de eerste trimester serumanalyse is een dergelijke database er niet. In 1999 werd daarom een pilot-onderzoek gestart om mediane (normaal)waarden per zwangerschapweek van PAPP-A en f β -hCG te bepalen. Voor de verwerving van sera werd samenwerking gezocht met het Onze Lieve Vrouwe Gasthuis (OLVG) en het Academisch Medisch Centrum in Amsterdam (AMC), twee ziekenhuizen die al enige jaren belangstelling hebben voor, en ervaring hebben met eerste trimester-risicoschatting in een onderzoekssetting. In een later stadium werd samenwerking gezocht met het medisch centrum van de Vrije Universiteit Amsterdam (VUMC), dat uit een eigen pilot-onderzoek voor de eerste trimester risicoschatting van Down syndroom een aantal sera ter beschikking stelde.

Dit rapport beschrijft de meting van PAPP-A en f β -hCG in sera uit het eerste trimester van de zwangerschap met behulp van de AutoDelfia-methode. Internationaal is de (Auto-)Delfia methode één van de meest gebruikte bepalingsmethodes voor PAPP-A en f β -hCG. Met deze methode is in het kader van de triple test ruime ervaring opgedaan. Individuele concentraties en mediane concentraties per zwangerschapsweek werden vergeleken met beschikbare data uit andere studies.

Vervolgens werden met deze metingen mediane waarden per zwangerschapsdag voor PAPP-A en f β -hCG gemodelleerd. De geschiktheid van deze mediane concentraties werd op twee manieren geëvalueerd. Allereerst werden ze vergeleken met de gemodelleerde waarden gebaseerd op ca. 2000 metingen uit een uitgebreide studie in het Verenigd Koninkrijk waarin dezelfde bepalingsmethode gebruikt werd. Daarnaast werden de PAPP-A en f β -hCG concentraties, zoals bepaald in monsters van een extern kwaliteitsprogramma, omgerekend tot MoM-waarden. Deze MoM-waarden werden vervolgens vergeleken met de doel-MoM-waarden zoals vastgesteld in het externe kwaliteitsprogramma.

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Sera

Sera afkomstig van het AMC (n= 106) en het OLVG (n=101) werden na ontvangst opgeslagen bij -80°C tot het moment van analyse. De sera werden vergezeld van een formulier waarop de gegevens van de zwangere en de zwangerschap waren vastgelegd. Daarnaast werden sera verkregen van het VUMC (n=144). Die werden aldaar met dezelfde, maar manueel uitgevoerde, bepalingmethode geanalyseerd in het kader van de PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ analyse voor Down syndroom risicoschatting in het eerste trimester. Vervolgens werden ze ingevroren en bewaard bij -20°C . Van deze sera was de zwangerschapsduur (in weken en dagen nauwkeurig) en eventueel het gewicht van de zwangere op het moment van bloedafname beschikbaar gesteld.

Daarnaast werden sera geanalyseerd uit een extern kwaliteitscontroleprogramma voor eerste trimester serumanalyse (UKNEQAS, Groot-Brittannië). De gevonden PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ concentraties in deze monsters werden vergeleken met de door UKNEQAS gepubliceerde target-concentraties voor dezelfde (zie par. 2.2) bepalingmethode. Met behulp van de voor het RIVM vastgestelde mediane waarden per zwangerschapsduur (zie par. 2.3) werden de PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ concentraties omgerekend in MoM-waarden en vergeleken met door UKNEQAS gepubliceerde target-concentraties en -MoM-waarden.

2.2 Bepaling van PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ in maternaal serum

De serumconcentratie van PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ werd bepaald met commercieel verkrijgbare assays met behulp van de AutoDELFI[®]A-methode (Perkin-Elmer, Finland). In het kort is de bepaling een 'indirect-sandwich' techniek (PAPP-A) of een 'direct-sandwich' techniek ($\text{f}\beta\text{-hCG}$), uitgevoerd in microtiter-teststrips. Er worden steeds twee muis-monoclonale antilichamen gebruikt, gericht tegen verschillende antigene determinanten van PAPP-A, respectievelijk $\text{f}\beta\text{-hCG}$. Gebonden PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ worden aangetoond met Europium (Eu)-gelabeld anti-PAPP-A respectievelijk Samarium (Sm)-gelabeld anti $\text{f}\beta\text{-hCG}$. Na aanstraling is de hoeveelheid gemeten fluorescentie evenredig met de hoeveelheid PAPP-A, respectievelijk $\text{f}\beta\text{-hCG}$. De analyses werden volledig geautomatiseerd uitgevoerd met een AutoDelfia systeem gekoppeld aan een pipeteerrobot.

2.3 Berekening van $\text{f}\beta\text{-hCG}$ en PAPP-A MoM-waarden

De berekening van de PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ MoM-waarden werd gedaan met behulp van het software programma '1T-risks' (versie 1.7, 1999, Perkin-Elmer Wallac, Finland). De mediane waarden per zwangerschapsweek uit dit risicoberekeningsprogramma waren afkomstig van gemodelleerde medianen berekend op basis van 338 sera uit de onderhavige studie (zie par. 3.3).

3. RESULTATEN

3.1 PAPP-A en fb-hCG; individuele serumanalyses

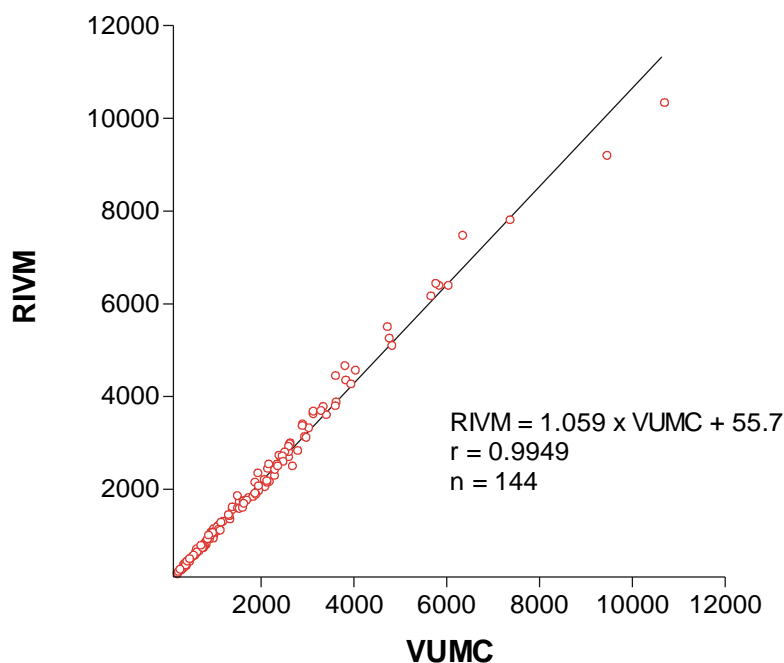
In Figuur 1 en Figuur 2 is de relatie weergegeven tussen de concentraties van PAPP-A en fb-hCG in 144 sera zoals gemeten door het RIVM en door het VUMC. Uit de figuren en de regressie-analyse blijkt dat er een zeer goede correlatie is tussen de resultaten van het RIVM en VUMC.

In de experimentele populatie afkomstig van OLVG en AMC bevonden zich één zwangere met insuline-afhankelijke diabetes (IDDM), twee tweelingen en zes zware rokers (10 of meer sigaretten per dag).

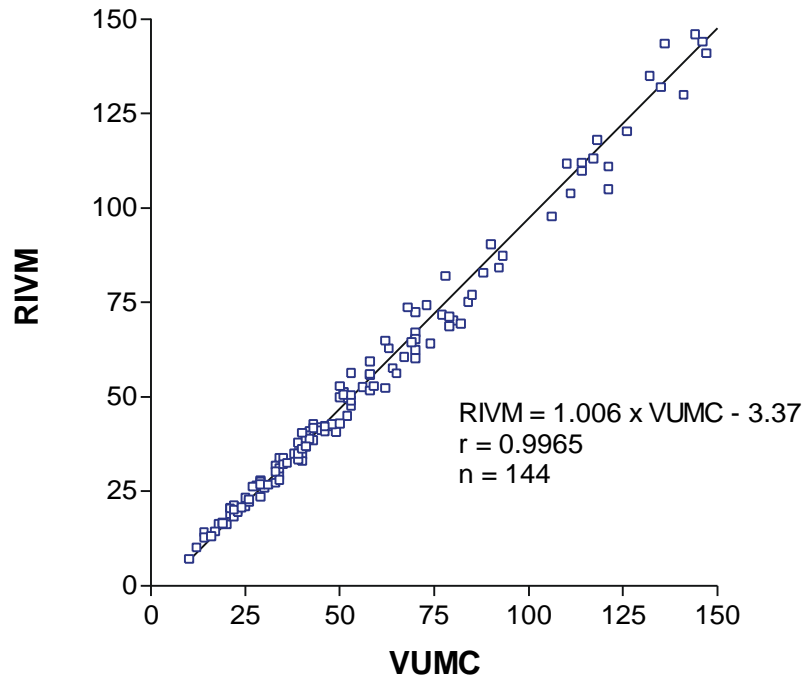
De PAPP-A concentraties in de sera van de tweelingzwangerschappen waren respectievelijk 12300 en 3250 IU/l en de fb-hCG concentraties waren respectievelijk 126 en 48 µg/l.

In Figuur 3 en Figuur 4 zijn de individuele concentraties van PAPP-A en fb-hCG weergegeven waarbij onderscheid is gemaakt tussen de herkomst van de sera.

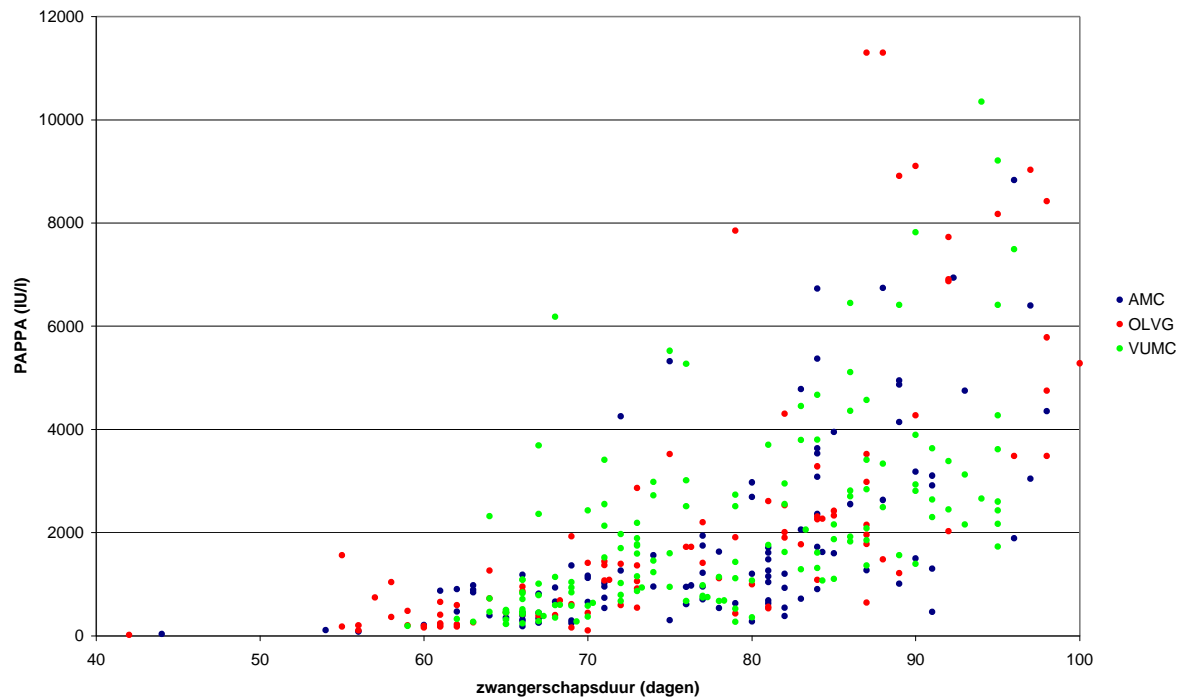
De figuren illustreren dat er geen verschillen in serumconcentraties van PAPP-A en fb-hCG zijn wat betreft de herkomst van de sera. Ook wat betreft de verdeling over de verschillende zwangerschapsdagen zijn er geen duidelijke verschillen.



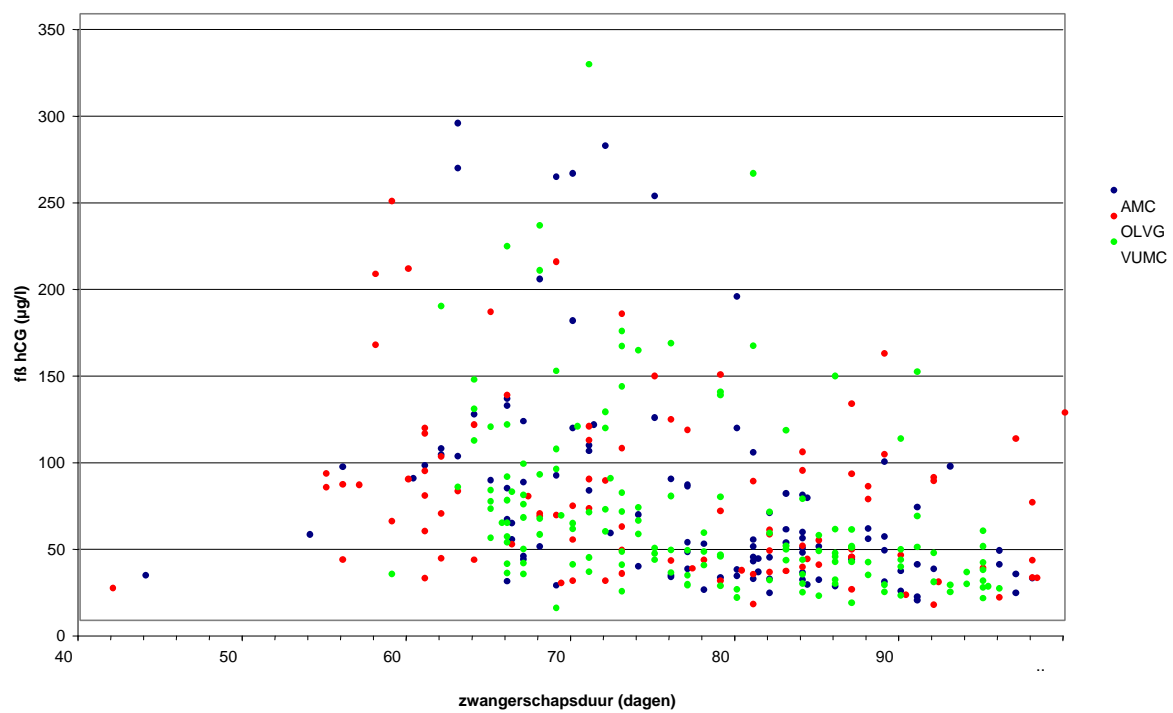
Figuur 1 Relatie tussen PAPP-A concentraties (in IU/l) zoals gemeten door VUMC en RIVM (grafiek; M. Lomecky, VUMC).



Figuur 2 Relatie tussen **fb**-hCG concentraties (in $\mu\text{g/l}$) zoals gemeten door VUMC en RIVM. Waarden boven de $150 \mu\text{g/l}$ zijn niet weergegeven in de figuur maar wel meegenomen in de regressieberekening. (grafiek; M. Lomecky, VUMC).



Figuur 3 PAPP-A concentraties van eerste trimester sera afkomstig van AMC, OLVG en VUMC (enkelvoudige zwangerschappen).



Figuur 4 fb-hCG concentraties van eerste trimester sera afkomstig van AMC, OLVG en VUMC (enkelvoudige zwangerschappen).

3.2 Mediane concentraties van PAPP-A en f β -hCG per zwangerschapsweek

In Tabel 1 zijn de mediane concentraties van PAPP-A en f β -hCG weergegeven per voltooide zwangerschapsweek.

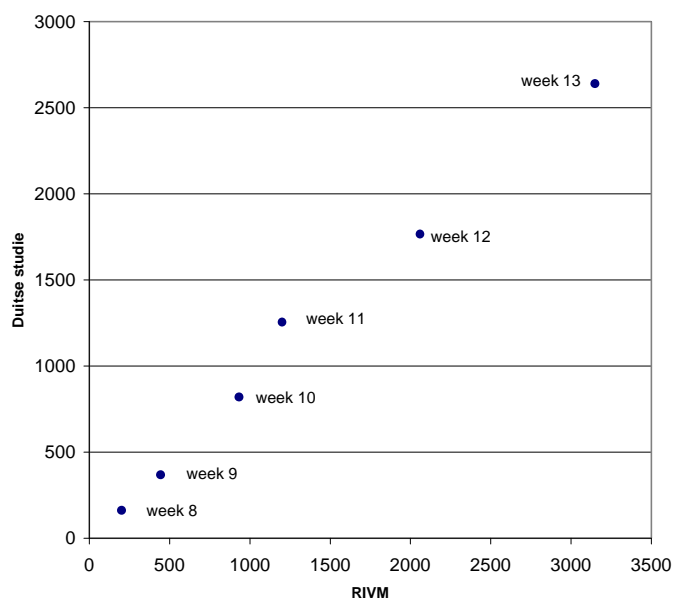
De mediane concentraties uit deze studie werden vergeleken met die uit een Duitse studie waarin 952 PAPP-A en f β -hCG concentraties met dezelfde bepalingmethode zijn verkregen (Figuur 5 en Figuur 6; gegevens ter beschikking gesteld door M. Rintala, Perkin en Elmer, Finland). De mediane serumconcentraties van PAPP-A per zwangerschapsweek uit deze studie komen overeen met de mediane serumconcentraties uit de Duitse studie. Voor f β -hCG is deze overeenkomst er ook maar iets minder duidelijk.

Tabel 1 PAPP-A en f β -hCG medianen per voltooide zwangerschapsweek (enkelvoudige zwangerschappen)

week	n	PAPP-A (IU/l)	f β -hCG (μ g/l)
6	2	25	22.4
7	3	177	76.9
8	25	225	86.2
9	71	500	72.5
10	66	1245	65.8
11	66	1240	39.7
12	72	2590	38.3
13	37	3430	28.6

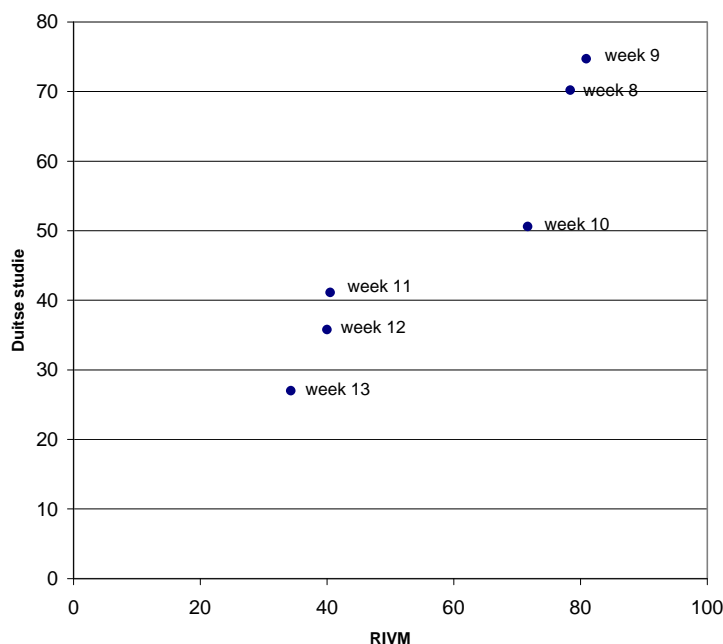
Noot Een zwangerschapsweek omvat de periode van bijvoorbeeld 10 weken en 0 dagen tot en met 10 weken en 6 dagen.

Noot 2 Eén serum uit week 10 en één serum uit week 12 waren afkomstig uit het tweede trimester (triple test) programma van het RIVM.



Figuur 5 Relatie tussen de mediane concentraties van PAPP-A (IU/l) per zwangerschapsweek van het RIVM en een Duitse studie.

Noot Omwille van de vergelijkbaarheid is in deze figuur uitgegaan van afgeronde zwangerschapsweken, waarbij bijvoorbeeld week 10 de gegevens van 9 weken en 4 dagen tot 10 weken en 3 dagen omvat.



Figuur 6 Relatie tussen de mediane concentraties van $\text{f}\beta\text{-hCG}$ ($\mu\text{g/l}$) per zwangerschapsweek van het RIVM en een Duitse studie.

Noot Omwille van de vergelijkbaarheid is in deze figuur uitgegaan van afgeronde zwangerschapsweken, waarbij bijvoorbeeld week 10 de gegevens van 9 weken en 4 dagen tot 10 weken en 3 dagen omvat

3.3 Gemodelleerde medianen

Voor de modelmatige benadering van de relatie tussen de zwangerschapsduur en de PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ concentratie werd samenwerking gezocht met H. Cuckle (Leeds University, Groot-Brittannië). De modelmatige benaderingen hieronder zijn gebaseerd op 338 concentraties. Tweeling- en IDDM-zwangerschappen en zwangerschappen waarin de zwangere meer dan tien sigaretten per dag rookte zijn buiten beschouwing gelaten. De modelmatig benaderde mediane concentraties voor PAPP-A en $\text{f}\beta\text{-hCG}$ per zwangerschapsdag zijn respectievelijk:

$$\text{PAPP-A} = 10^{(-3.08398 + 0.128107 * \text{dag} - 0.000616113 * \text{dag} * \text{dag})}$$

$$\text{f}\beta\text{-hCG} = 340.519 - 5.73338 * \text{dag} + 0.0257406 * \text{dag} * \text{dag}$$

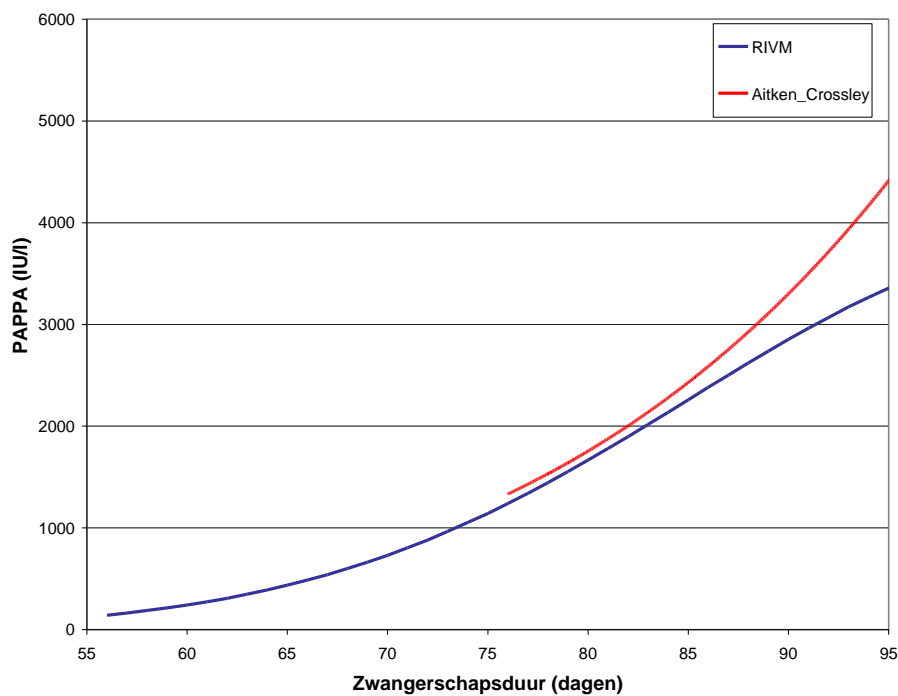
waarbij dag = zwangerschapsduur in dagen

Voor de volledige dataset leidt dit tot een mediane MoM van 1.04 voor PAPP-A (10logSD; 0.28) en een mediane MoM van 1.00 voor $\text{f}\beta\text{-hCG}$ (10logSD; 0.30).

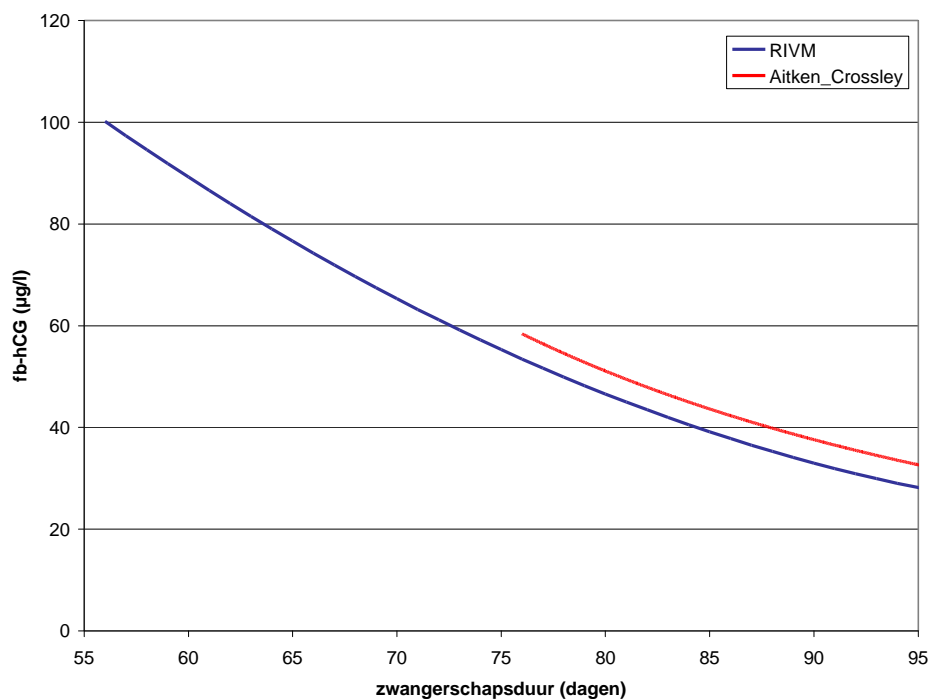
De gemodelleerde mediane serumconcentraties voor zwangerschapsdag 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, en 98 zijn vervolgens ingevoerd in de risicoberekeningssoftware om als basis te dienen voor risicoberekeningen voor Down syndroom in het eerste trimester van de zwangerschap.

De benaderingen staan ook weergegeven in Figuur 7 en Figuur 8. Ter illustratie zijn in de figuren ook de modelmatige benaderingen uit een Engelse studie weergegeven, gebaseerd op ca. 2000 metingen in sera afgenomen tussen 10 weken en 6 dagen en 13 weken en 6 dagen zwangerschap, waarin dezelfde AutoDelfia methode is gebruikt (D.A. Aitken en J.A. Crossley, Institute of Medical Genetics, Glasgow, Groot-Brittannië; gegevens ter beschikking gesteld door M. Rintala).

Bij een zwangerschapsduur boven de 12 weken zijn de gemodelleerde PAPP-A concentraties uit de studie van Aitken en Crossley hoger dan die van de onderhavige studie. De gemodelleerde β -hCG concentraties zijn voor beide studies ongeveer gelijk.



Figuur 7 Modelmatige benadering tussen de zwangerschapsduur en de PAPP-A concentratie in maternaal serum



Figuur 8 Modelmatige benadering tussen de zwangerschapsduur en de fb-hCG concentratie in matернаal serum

3.4 Analyses van QC-monsters uit een extern kwaliteitscontroleprogramma

In deze studie is een aantal controlemonsters geanalyseerd uit het eerste trimester kwaliteitscontroleprogramma van UKNEQAS (Edinburgh, Groot Britannië). Met de gemodelleerde mediane concentraties uit paragraaf 3.3 en de door het kwaliteitscontrole-programma vermelde zwangerschapsduur en gewicht werden ook de MoM-waarden van de kwaliteitscontrole-monsters bepaald. De gevonden concentraties en MoM-waarden werden vergeleken met de targetwaarden van het kwaliteitscontroleprogramma. In Tabel 2 is zowel het gemiddelde percentage recovery (gevonden waarde/targetwaarde*100%) gegeven als de door ons gerapporteerde MoM-waarden als percentage van de target-MoM-waarden.

Tabel 2 Recovery en MoM als percentage MoM-targetwaarden van kwaliteitscontrolemonsters uit een extern kwaliteitscontroleprogramma.

	n	gemiddelde recovery	MoM (percentage NEQAS target)
PAPP-A	43	103,6	113,7
f β -hCG	40	96,7	105,8

Noot 1 De MoM-waarden zijn berekend bij een zwangerschapsduur van 11 weken en 0 dagen, rekening houdend met een gewicht van de zwangere van 67 kg.

Noot 2 De UKNEQAS targetwaarden zijn de gemiddelden (gecorrigeerd voor uitbijters) van de concentraties zoals gerapporteerd door de deelnemende laboratoria (10-12) die dezelfde (Delfia) bepalingmethode gebruiken.

Uit Tabel 2 blijkt dat de recovery van PAPP-A en f β -hCG rond de 100% van de UKNEQAS targetconcentraties ligt.

De MoM-waarden van PAPP-A zijn ca. 14% hoger dan de targetwaarden en de f β -hCG MoM-waarden zijn ca. 6 % hoger dan de targetwaarden.

4. DISCUSSIE EN CONCLUSIES

Naast de reeds bekende mogelijkheden om in het tweede trimester van de zwangerschap het risico op foetaal Down syndroom te schatten (triple test) is er een toenemende belangstelling voor een risicoschatting in het eerste trimester. In de literatuur wordt hiervoor de bepaling van de concentratie van PAPP-A en β -hCG genoemd.

Het doel van deze studie was het retrospectief verwerven van mediane concentraties per zwangerschapsdag voor PAPP-A en β -hCG in maternaal serum om daarmee risicoberekening voor Down syndroom in het eerste trimester van de zwangerschap mogelijk te maken.

Een probleem bij het gebruik van bevroren bewaard serum is dat herhaalde cycli van invriezen en ontdooien de hoeveelheid β -hCG kan verhogen (16). Uit Figuur 2 blijkt dat dit proces niet heeft plaatsgevonden in de serummonsters afkomstig van het VUMC, die één vries-dooi cyclus hebben doorgemaakt. Overigens kwamen ook de PAPP-A concentraties overeen met de oorspronkelijk door het VUMC vastgestelde concentraties. Dat legitimeert het includeren van de PAPP-A en β -hCG waarden bij de modellering van mediane concentraties per zwangerschapsdag (par. 3.3).

De mogelijkheden om te controleren of de meetmethode zoals door het RIVM toegepast en de gemodelleerde medianen correct zijn, zijn relatief beperkt. Zo zijn er bijvoorbeeld geen, al dan niet gemodelleerde, mediane waarden bekend van het VUMC (prof. dr. J.M.G. van Vugt, persoonlijke communicatie). Gepubliceerde mediane concentraties per zwangerschapsweek (17, 18, 19) zijn verkregen met andere bepalingsmethoden dan die uit deze studie; vergelijking van die concentraties met die uit deze studie is daarom niet zinvol.

Wel waren mediane PAPP-A en β -hCG concentraties per zwangerschapsweek vergelijkbaar met die gevonden in een Duitse studie (Figuur 5 en Figuur 6). Opvallend is het geringe verschil tussen de mediane waarden van week 10 en week 11 (Tabel 2). Een mogelijke verklaring hiervoor zou kunnen zijn een (onterechte) afronding van zwangerschapsduren laat in de 11e week naar 12 weken en 0 dagen. Het aantal monsters afgenomen bij 12 weken en 0 dagen ($n=20$) is inderdaad ca. 2 maal zo hoog als het aantal bij 11 weken en 6 dagen ($n=8$) of 12 weken en 1 dag ($n=7$). Deze onterechte afronding zou overigens ook een effect moeten hebben op de mediane waarden van β -hCG. Dit effect is er echter niet (Tabel 1).

De modellering van mediane waarden per zwangerschapsdag (par. 3.3) is gebaseerd op het beschikbare aantal concentraties (338). Deze mediane waarden dienen beschouwd te worden als start-parameters. Naarmate er, bij routinematige bepaling van PAPP-A en β -hCG meer concentraties beschikbaar komen moeten de modelleringen op basis van de uitgebreide dataset opnieuw berekend worden (H. Cuckle, persoonlijke communicatie).

De verworven gemodelleerde mediane concentraties zijn vergeleken met gemodelleerde mediane waarden van een Britse studie met ca. 2000 PAPP-A en β -hCG concentraties (Figuur 7 en Figuur 8). De gemodelleerde mediane concentraties van onze studie en de Britse studie zijn vergelijkbaar, zij het dat bij een zwangerschapsduur boven 12,0 weken de PAPP-A concentraties van de Britse studie iets hoger liggen. Een mogelijke oorzaak hiervoor is het relatief geringe aantal PAPP-A concentraties in week 13 in onze studie (37; Tabel 1). Mogelijk verbetert de vergelijkbaarheid van de PAPP-A concentraties bij het beschikbaar komen van meer gegevens.

Andere aanwijzingen over de geschiktheid van de gemodelleerde mediane waarden (en van de bepalingmethode) komen uit de gegevens van een extern kwaliteitscontroleprogramma. Uit de vergelijking met de targetwaarden van dit programma blijkt dat de PAPP-A concentraties van het RIVM gemiddeld ca. 4% hoger zijn dan de targetwaarde en $f\beta$ -hCG concentraties gemiddeld ca. 4% lager. Die afwijking is vergelijkbaar met of kleiner dan de afwijkingen die in het UKNEQAS kwaliteitsprogramma voor de triple test worden gevonden.

De afwijking van de MoM-waarden van PAPP-A in het UKNEQAS programma is ca. 14%. Dit verschil wordt mogelijk kleiner door herberekening van de gemodelleerde medianen op basis van nog te verwerven gegevens.

De afwijking van de MoM-waarden van $f\beta$ -hCG is ca. 6%. De afwijking van de MoM-waarden van $f\beta$ -hCG die in het UKNEQAS kwaliteitsprogramma voor de triple test worden gevonden zijn vergelijkbaar.

Op basis van alle bevindingen tezamen wordt geconcludeerd dat de bepaling van PAPP-A en $f\beta$ -hCG serumconcentraties in het eerste trimester van de zwangerschap in combinatie met de gemodelleerde mediane concentraties per zwangerschapsdag geschikt is zijn om als uitgangspunt te dienen voor risicoschattingen voor Down syndroom.

Aanvragen voor deze methode van risicoschatting (op individueel verzoek of binnen een WBO-plichtige onderzoeksvraag) kunnen daarmee in de toekomst gehonoreerd worden. Na deze belangrijke initiële stap dienen daarvoor echter de logistieke aspecten en automatiserings- en kwaliteitsaspecten van de eerste trimester risicoschatting nader uitgewerkt te worden.

Hiertoe behoren onder andere het ontwerpen van een aanvraagformulier en het ontwerpen van geautomatiseerde gegevensverkeer tussen de analyse-apparatuur, de risicoberekeningssoftware en het laboratorium informatie management systeem. Daarnaast is van belang het implementeren van een kwaliteitsbewakingsysteem, waarin kwaliteitscontrolemonsters uit interne en externe programma's, en permanente bewaking van mediane waarden en percentages 'verhoogd risico'-uitslagen geïncorporeerd zijn.

Voor het berekenen van risicoberekeningen gebaseerd op PAPP-A en $f\beta$ -hCG –serumconcentraties en NT-metingen dient een communicatiesysteem met de aanvragers ontworpen te worden voor de uitwisseling van NT-metingen. Voor een groot deel van deze zaken kan gelukkig teruggegrepen worden op langjarige ervaring met de triple test.

LITERATUUR

1. Gezondheidsraad. Prenatale screening. Down syndroom, neuralebuisdefecten, routine-echoscopie. Den Haag. Gezondheidsraad 2001; publicatie nr. 2001/11
2. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am-J-Obstet-Gynecol* 1984; 148(7):886-94.
3. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *J-Med-Screen* 1997; 4(4):181-246.
4. Brambati B, Tului L, Bonacchi I, Shrimanker K, Suzuki Y, Grudzinskas JG. Serum PAPP-A and free beta-hCG are first-trimester screening markers for Down syndrome. *Prenat-Diagn* 1994; 14(11):1043-7.
5. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw AK. First trimester serum screening for Down's syndrome. *Prenat-Diagn* 1995; 15(13):1227-40.
6. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992; 304(6831): 867-9.
7. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJ. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br-J-Obstet-Gynaecol* 1994; 101(9): 782-6.
8. Pandya PP, Snijders RJ, Johnson SP, De Lourdes Brizot M, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *Br-J-Obstet-Gynaecol* 1995; 102(12):957-62.
9. Powell KJ, Grudzinskas JG. Screening for Down syndrome in the first trimester. *Reprod-Fertil-Dev* 1995; 7(6): 1413-7.
10. Zimmermann R, Hucha A, Savoldelli G, Binkert F, Achermann J, Grudzinskas JG. Serum parameters and nuchal translucency in first trimester screening for fetal chromosomal abnormalities. *Br-J-Obstet-Gynaecol* 1996; 103(10):1009-14.
11. Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, McBride E, Connor JM. Combined ultrasound and biochemical screening for Down's syndrome in the first trimester: a Scottish multicentre study. *BJOG* 2002; 109(6): 667-76.
12. Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. One-stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: a prospective study of 15 030 pregnancies. *Ultrasound-Obstet-Gynecol* 2002; 20(3): 219-25.
13. Bindra R, Heath V, Nicolaides KH. Screening for chromosomal defects by fetal nuchal translucency at 11 to 14 weeks. *Clin-Obstet-Gynecol* 2002; 45(3): 661-70.
14. Meier C, Huang T, Summers AM, Wyatt PR. Impact on populations using competitive screening methods for aneuploidy and neural tube defects. A review of 127.000 cases. (O16. Abstract). 11th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy. Buenos Aires (3-5 Juni, 2002).
15. Cuckle H. Time for total shift to first-trimester screening for Down's syndrome. *Lancet* 2001; 358: 1658-59.
16. Masse J, Forest JC, Moutquin JM, Degrandpre P. Effect of repeated freeze-thaw cycles on maternal serum biological markers for the detection of fetal trisomies. *Clin-Biochem* 1997; 30(7):527-30.
17. Macintosh MC, Brambati B, Chard T, Grudzinskas JG. Predicting fetal chromosome anomalies in the first trimester using pregnancy associated plasma protein-A: a comparison of statistical methods. *Methods-Inf-Med* 1993; 32(2):175-9.

18. Hurley PA, Ward RH, Teisner B, Iles RK, Lucas M, Grudzinskas JG. Serum PAPP-A measurements in first-trimester screening for Down syndrome. *Prenat-Diagn* 1993; 13(10):903-8.
19. Qin QP, Nguyen TH, Christiansen M, Larsen SO, Norgaard Pedersen B. Time-resolved immunofluorometric assay of pregnancy-associated plasma protein A in maternal serum screening for Down's syndrome in first trimester of pregnancy. *Clin-Chim-Acta* 1996; 254(2):113-29.