

## Screening Downova syndromu v prvním, druhém nebo obou trimestrech?

Hana Belošovičová, Pavel Calda  
Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Korespondenční adresa: MUDr. Hana Belošovičová, PhD., Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN v Praze, Apolinářská 18, Praha 2, 128 51, tel.: +420 605 708 471, e-mail: hanabelosovicova@seznam.cz

Publikováno: 16. 1. 2012      Přijato: 15. 12. 2011      Akceptováno: 4. 1. 2012  
Actual Gyn 2012, 4, 14-21      ISSN 1803-9588      © 2009, Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Belošovičová H, Calda P. Screening Downova syndromu v prvním, druhém nebo obou trimestrech? Actual Gyn. 2012;4:14-21

## DOWN SYNDROME SCREENING IN THE FIRST, SECOND OR BOTH TRIMESTERS?

### Review article

#### Abstract

The aim of this article is to give an overview of current status of worldwide discussion of effectiveness of Down's syndrome screening programs. This article explains structure of basic screening strategies and review of their published evidence. In this article screening tests of the first trimester (combined test with or without new sonographic markers), the second trimester (quadruple, triple and double test) and tests which combine markers of the first trimester with markers of the second trimester (integrated test, sequential test and contingent tests) are discussed. Arguments supporting current trend to perform screening in the first trimester with combination ultrasound and biochemical markers of the first trimester are discussed.

**Key words:** Down syndrome, screening strategies, efficiency, combined test, integrated test, biochemical screening, ultrasound, prenatal diagnostics

### Přehledový článek

#### Abstrakt

Cílem článku je podat odborné veřejnosti přehled současného stavu celosvětové diskuze o tom, který screeningový program pro Downův syndrom se jeví jako nejefektivnější. Článek uvádí přehled hlavních screeningových strategií, strukturu jednotlivých testů a diskuzi o evidenci, která je o nich publikována. V článku jsou diskutovány screeningové programy prvního trimestru (kombinovaný test, kontingenční test v prvním trimestru), druhého trimestru (quadruple, triple, double test) i programy kombinující první a druhý trimestr (integrovaný test, sekvenční test, kontingenční testy). Článek podrobně rozebírá důvody podporující současný příklon k screeningu v prvním trimestru, který kombinuje ultrazvukové vyšetření a biochemické vyšetření séra těhotné, tedy kombinovaný test a kontingenční test v prvním trimestru.

**Klíčová slova:** Downův syndrom, screeningové testy, efektivita, kombinovaný test, integrovaný test, biochemický screening, ultrazvuk, prenatální diagnostika

## Úvod

Aneuploidie jsou nejen zásadní příčinou perinatálních úmrtí, ale též častou příčinou psychomotorického a fyzického postižení. K vyloučení nebo potvrzení aneuploidie plodu slouží invazivní metody prenatalní diagnostiky (amniocentéza, CVS). Tyto invazivní testy jsou spojeny nejen s vysokými finančními náklady, ale i s rizikem ztráty těhotenství, jehož výše je celosvětově diskutována. Obecně se udává v rozmezí 0,5–1 %. Někteří autoři spekulují o riziku nižším. Přehledový článek z Cochrane databáze však uzavírá riziko na podkladě současné evidence na 1 % (1). Proto je v posledních více jak 40 letech snaha nalézt co nejefektivnější screeningový test pro stanovení rizika nejčastějších aneuploidí. Během této doby bylo navrženo bezpočet screeningových programů. Cílem článku je podat odborné veřejnosti přehled současného stavu celosvětové diskuze o tom, který screeningový program pro Downův syndrom se jeví jako nejefektivnější. Článek uvádí přehled hlavních screeningových strategií, strukturu jednotlivých testů a diskuzi o evidenci, která je o nich publikována.

## Charakteristiky screeningového programu

Mezi základní charakteristiky prenatalních screeningových testů Downova syndromu patří procento detekce (DR), hladina falešné pozitivivity (FPR), gestační stáří v době výsledku testu a cena testu resp. jeho finanční efektivita při populačním screeningu.

Procento detekce, falešná pozitivita a cut-off pozitivita testu jsou přitom spojené nádoby. O žádném testu se nedá říci samostatně, jakou má detekci. Vždy je třeba říci, při jaké falešné pozitivitě se této detekce dosahuje a jaké cut-off riziko je používáno, tedy jakou hranici musí výsledné riziko překročit, aby byl výsledek považován za pozitivní. Mezi gestačním stářím a zdravotními riziky případného ukončení těhotenství je přímá úměra, jinými slovy, čím starší je těhotenství, tím vyšší je riziko komplikací při případném ukončení gravidity. Srovnání finanční efektivity populačního screeningu může být velmi obtížně přenosné nejen mezi jednotlivými státy, ale i v čase (změna ceny přístrojů, materiálu, lidské práce atd.).

Screeningové testy se však liší i v dalších aspektech. Screeningové programy zahrnující ultrazvuk v prvním trimestru hodnotí nejen riziko Downova syndromu, ale dávají i informace o morfologii plodu resp. zahrnují i screening jiných vrozených vývojových vad, než je Downův syndrom. Ultrazvuk v prvním trimestru též ověřuje resp. koriguje gestační stáří, což má podstatný vliv na celý management těhotenství. Stanovuje též četnost těhotenství a u vícečetného těhotenství chorionicitu, která může být na ultrazvuku po 16. týdnu těhotenství již obtížně posouditelná. To má opět zásadní dopad na management celého těhotenství.

Nezanedbatelnou výhodou prvotrimestrálního screeningu je to, že výsledek screeningu je těhotné sdělen ihned po ukončení ultrazukového vyšetření, výsledek je jí vysvětlen lékařem a těhotná má možnost klást otázky, je jí navržen další postup. To omezuje stres těhotné. Těhotná není vystavena telefonátům upozorňujících ji na špatný výsledek testu ani nálezům korespondenčních lístků v poštovní schránce v době, kdy není k sehnání nikdo, kdo by jí výsledek vysvětlil.

Kritici prvotrimestrálního screeningu často poukazují na to, že detekční účinnost prvotrimestrálního screeningu je

přeceňována tím, že prvotrimestrální test detekuje i ty plody s Downovým syndromem, které by do druhého trimestru skončily spontánním potratem. To je jistě pravda. Pokud bychom nebrali v úvahu, že riziko spontánního potratu u plodu s Downovým syndromem je vyšší, než u plodu euploidního, falešně by to navyšovalo detekční účinnost všech, nejen prvotrimestrálních testů. Ze studií vyplývá, že po 12. týdnu těhotenství končí spontánním potratem nebo intrauterinním úmrtím plodu 30 % plodů s Downovým syndromem, po 14. týdnu 25 % a po 16. týdnu těhotenství je to 20 % (2,3). V období mezi gestačním stářím výsledku prvotrimestrálního testu a druhotrimestrálního testu tedy spontánním potratem končí asi 10 % plodů s Downovým syndromem. Ve vzájemném posuzování efektivit jednotlivých strategií se s tím pochopitelně počítá. Nepříjemným důsledkem časně detekce trizomických gravidit, které by později beztak skončily spontánním potratem je stres, kterému jsou těhotné vystaveny po sdělení diagnózy a rozhodování o osudu těhotenství (většina z nich se rozhodne pro ukončení). To se však týká i screeningu v trimestru druhém. V prvním trimestru se jedná o 25–30 % detekovaných plodů, v trimestru druhém o 20 % (2,3).

## Screeningové programy a jejich definice

### Kombinovaný test

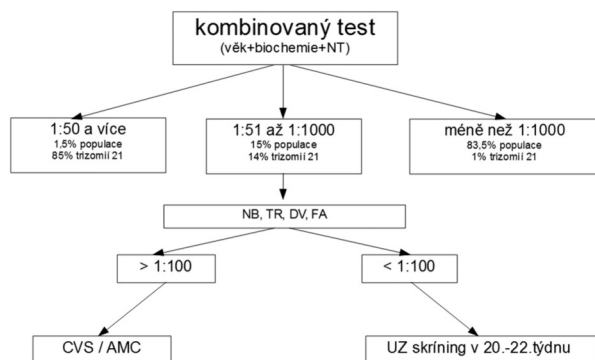
Tento test stanovuje riziko Downova, Edwardsova a Patauova syndromu na podkladě věku těhotné, PAPP-A, volné podjednotky beta-hCG a NT. Součástí ultrazukového vyšetření je datace těhotenství, ověření četnosti těhotenství, v případě vícečetného těhotenství stanovení chorionicity a též screening strukturálních vrozených vývojových vad plodu. Test je možno uzavřít v gestačním stáří  $11^{+3}$ – $13^{+6}$ .

Kombinovaný test v prvním trimestru je schopen identifikovat 90 % plodů s Downovým syndromem při falešné pozitivitě nižší než 5 %. Zvýšení efektivit kombinovaného testu (zvýšení DR a snížení FPR) lze dosáhnout dvěma postupy: 1) zařazením ultrazukových minomarkerů v prvním trimestru (kontingenční test v prvním trimestru) a 2) odběrem biochemie prvního trimestru (PAPP-A a volné podjednotky beta-hCG) v 9.–10. týdnu těhotenství a provedením ultrazuku v 12. týdnu těhotenství (4,16).

### Kontingenční test v prvním trimestru

Tento test stanovuje riziko Downova, Edwardsova a Patauova syndromu na podkladě věku těhotné, PAPP-A, volné podjednotky beta-hCG, NT a minomarkerů Downova syndromu v prvním trimestru (NB, TR, DV, FA, HA). Součástí ultrazukového vyšetření je datace těhotenství, ověření četnosti těhotenství, v případě vícečetného těhotenství stanovení chorionicity a též screening strukturálních vrozených vývojových vad plodu. Test je možno uzavřít v gestačním stáří  $11^{+3}$ – $13^{+6}$ .

Nové UZ markery Downova syndromu v prvním trimestru lze použít dvojím způsobem. Prvním přístupem je zhodnotit riziko na základě kombinovaného testu (věk, PAPP-A, volná podjednotka beta-hCG a NT). Je-li toto riziko 1:50 a více, je nabídnuta biopsie choria (CVS). Je-li riziko nižší než 1:1000, je test uzavřen jako negativní. Je-li riziko tzv. hraniční, tedy 1:51 – 1:1000, pak jsou vyšetřeny tyto nové ultrazukové markery (NB, TR, DV, FA, HA). Celkový vý-



**Obr. 1** Schéma kontingenčního testu v prvním trimestru (Nicolaides et al. 2009)

sledek testu je pak hodnocen až spolu s těmito markery (**Obr. 1**).

V druhém přístupu jsou nové markery vyšetřeny u všech těhotných. Obě strategie mají stejnou DR při stejné FPR. Kontingenční test v prvním trimestru dosahuje při falešné pozitivitě 2–3 % detekce kolem 95 % Downova syndromu (4).

Kombinovaný a kontingenční test v prvním trimestru jsou nejen mnohem efektivnější screeningové metody než věk těhotné, ale též snižují riziko potratu chromozomálně normálního plodu, nahradí-li v indikaci k invazivnímu vyšetření čistě věkovou indikaci.

#### Double test

Tento test stanovuje riziko Downova a Edwardsova syndromu na podkladě věku, AFP a hCG.

Zahrnuje-li test celou molekulu hCG, pak má při 5% falešné pozitivitě 55–60% detekci (4). Zahrnuje-li volnou podjednotku beta-hCG, je detekce při stejné falešné pozitivitě o 5 % vyšší.

Ačkoliv je tento test pro svou nízkou detekci považován za jednoznačně obsolentní, je v naší praxi stále používán a je tedy třeba jej zmínit.

#### Triple test

Tento test stanovuje riziko Downova a Edwardsova syndromu na podkladě věku, AFP, hCG a uE3.

Zahrnuje-li test celou molekulu hCG, pak má při 5% falešné pozitivitě 60–65% detekci (4). Zahrnuje-li volnou podjednotku beta-hCG, je detekce při stejné falešné pozitivitě o 5 % vyšší.

#### Quadruple test

Tento test stanovuje riziko Downova a Edwardsova syndromu na podkladě věku, AFP, hCG, uE3 a inhibinu A.

Zahrnuje-li test celou molekulu hCG, pak má při 5% falešné pozitivitě 55–60% detekci (4). Zahrnuje-li volnou podjednotku beta-hCG, je detekce při stejné falešné pozitivitě o 5 % vyšší.

Výsledky testů biochemie druhého trimestru jsou k dispozici dle gestačního stáří odběru, který je prováděn v 16.–20. týdnu těhotenství. Ke gestačnímu stáří odběru je třeba připočítat ještě dobu předání výsledku z laboratoře k ošetřujícímu gynekologovi a od něj k pacientce. Těhotná se informací většinou dozvídá po telefonu, nebo dokonce

písemnou informací o pozitivitě testu a nutnosti okamžitého dostavení se k lékaři nachází ve své poštovní schránce. Při sdělení pozitivitě testu jí tak výsledek většinou není adekvátně vysvětlen, je těhotnou často chápán jako oznámení o existujícím poškození plodu, nikoliv jen zvýšeném riziku a vše tak navyšuje stres těhotné resp. obou partnerů.

#### Integrovaný test

Tento test stanovuje riziko Downova, Edwardsova a Patauova syndromu na podkladě věku těhotné, PAPP-A a NT v prvním trimestru a AFP, hCG, uE3 a inhibinu A v trimestru druhém. Tento test má ze všech současných testů v klinické praxi, pro něž existuje evidence, nejlepší výsledky z hlediska DR a FPR. Pravdou ovšem je, že evidence pro posouzení jeho DR a FPR jsou pouze z retrospektivních studií. Neexistuje žádná prospektivní multicentrická ani populační studie. Zásadním problémem tohoto testu je totiž jeho problematické provedení v praxi. V testu je zahrnuto pět nejvýznamnějších biochemických markerů Downova syndromu získaných v optimálním gestačním stáří z pohledu jejich senzitivity a specificity (PAPP-A v prvním trimestru, hCG v trimestru druhém) a NT jako nejsilnější v současné době známý ultrazvukový marker. Odtud tedy jeho vysoká detekční účinnost. Problém u integrovaného testu je s udržení nízké falešné pozitivitě, která je jeho zásadní předností. Nízké falešné pozitivitě je totiž možno dosáhnout pouze tehdy, pokud po náběru PAPP-A a ultrazvukovém zhodnocení NT v prvním trimestru není na výsledek nijak reagováno ve smyslu nabídky karyotypizace plodu. V praxi to znamená, že i u žen s vysoce suspektním nálezem zvýšeného NT a nízkého PAPP-A není nabízena karyotypizace a čeká se až na výsledek biochemie druhého trimestru. Tedy například u těhotné, jejíž plod má NT 6 mm a PAPP-A 0,1 MoM se čeká na zhodnocení spolu s markery druhého trimestru. Tento přístup je obecně považován za překážku nabídky integrovaného testu jako testu populačního. Obecně je integrovaný test považován za vhodný pro ty těhotné, pro něž je zcela nejzásadnější charakteristikou testu jeho nízká falešná pozitivita a které jsou za její cenu ochotny přijmout odklad případné diagnostiky Downova syndromu do druhého trimestru. Procento těhotných resp. párů, které souhlasí s odložením sdělení výsledku testu z prvního do druhého trimestru je ale velmi malé. Většina těhotných zcela jednoznačně preferuje znát výsledek screeningového testu v prvním trimestru (5). Další potíž integrovaného testu je to, že přes veškerou organizační snahu, určité procento těhotných projde pouze prvotrimestrální částí testu a druhotrimestrální část jim z různých důvodů provedena není. Odhaduje se, že v praxi to je minimálně 5 % těhotných (6). To může následně vést k nižší detekci a vyšší falešné pozitivitě celého testu. Ačkoliv to zastánci kombinace strategií prvního a druhého trimestru jen neradi připouštějí, tato nevýhoda „ztráty“ těhotných ze schématu screeningu se týká všech strategií kombinujících první a druhý trimestr.

#### Sekvenční test

Tento test zahrnuje kombinovaný test v prvním trimestru a biochemii trimestru druhého.

Stanovuje tedy riziko Downova, Edwardsova a Patauova syndromu na podkladě věku těhotné, PAPP-A, hCG a NT

v prvním trimestru a AFP, hCG, uE3 a inhibinu A v trimestru druhém. Rozdíl oproti integrovanému testu je v tom, že je prvotrimestrální kombinovaný test hodnocen jako pozitivní, nebo negativní a těhotným s pozitivním výsledkem je nabídnuta karyotypizace (CVS). Cutt-of pozitivita prvotrimestrální části testu je volena různě, pohybuje se většinou kolem 1:10 – 1:100. Všem těhotným, které mají negativní výsledek kombinovaného testu v prvním trimestru je pak nabídnuta biochemie trimestru druhého. Biochemie druhého trimestru je pak hodnocena buď zcela samostatně, nebo je integrována s výsledkem prvního trimestru.

Samostatné hodnocení druhotrimestrální biochemie po předchozím provedení kombinovaného testu značně navyšuje falešnou pozitivitu a tím i množství invazivních výkonů (CVS, amniocentéza) (7). Při provedení quadruple testu u všech těhotných s negativním kombinovaným testem je uspokojivá detekce Downova syndromu (94 %) avšak nepřijatelná falešná pozitivita (9 %) (8). Proto je sekvenční screening s odděleným hodnocením prvního a druhého trimestru obecně považován za obsoletní. V naší české praxi je však tento postup bohužel stále poměrně běžný. Těhotné je proveden kombinovaný test (buď samotným ošetřujícím gynekologem, nebo je odeslána k provedení screeningu do centra). Při pozitivitě testu je odeslána ke genetické konzultaci, nebo přímo do centra poskytujícího invazivní vyšetření karyotypu. Při negativitě kombinovaného testu je těhotné odeslána biochemie druhého trimestru do jiné laboratoře, nebo jiného centra, než kde byl proveden kombinovaný test a integrace výsledku tak není možná. Změna této situace je jedním z prvořadých úkolů současné praxe péče o těhotnou. Pro integrované hodnocení biochemie druhého trimestru s výsledkem kombinovaného testu v trimestru prvním se v Čechách používá název *sekvenční varianta integrovaného testu*. Tato varianta sekvenčního testu má nižší falešnou pozitivitu, než samostatné hodnocení. Jeho praktická DR a FPR závisí na nastavení cut-off pozitivity prvního a druhého trimestru. Čím je cut-off pozitivita prvního trimestru vyšší (tedy čím vyšší riziko je považováno za hranici mezi výsledkem pozitivním a negativním), tím je celková falešná pozitivita nižší, což je jistě optimální. Zároveň s vyšší cut-off pozitivitou v prvním trimestru souvisí nižší procento záchytu plodů s Downovým syndromem v prvním trimestru resp. přesun diagnostiky do trimestru druhého. To je spolu s obtížně udržitelnou nízkou falešnou pozitivitou testu zásadní nevýhoda tohoto testu. Hladina falešné pozitivit testu je obtížně udržitelná proto, že za léta praxe populačního screeningu jsme si zvykli na hranici pozitivit screeningu 1:300. Pro udržení přijatelné hladiny falešné pozitivit, je však v prvotrimestrálním kroku třeba použít cut-off pozitivit kolem 1:30. Celková detekce sekvenčního testu je srovnatelná s kontingenčním testem v prvním trimestru. Ten má však jasně definovanou a kontrolovatelnou falešnou pozitivitu a diagnostiku ukončenou v prvním trimestru. Nejistá je i cost-efektivita sekvenční varianty integrovaného testu. V této variantě testu se totiž, stejně jako u sekvenčního testu se samostatným hodnocením prvního a druhého trimestru, provádí biochemické vyšetření ve II. trimestru všem těhotným s negativním výsledkem prvotrimestrálního kroku. Celosvětově je spíše příklon k testu kontingenčnímu, (a to buď čistě prvotrimestrálnímu, nebo kombi-

nujícímu ultrazvukové a biochemické markery prvního a druhého trimestru – viz dále).

### **Sérum integrovaný test**

Sérum integrovaný test je variantou integrovaného testu, zahrnuje však pouze biochemické markery a ne ultrazvuk. Stanovuje riziko Downova, Edwardsova a Patauova syndromu na podkladě věku těhotné, PAPP-A v prvním trimestru a AFP, hCG, uE3 a inhibinu A v trimestru druhém. Při 5% hladině falešné pozitivit dosahuje tento test 86% záchytu Downova syndromu (8). Hladina falešné pozitivit je značně závislá na gestačním stáří v době odběru PAPP-A. Pokud bychom požadovali 90% záchyt, pak by sérum integrovaný test měl falešnou pozitivitu 7,4% při odběru PAPP-A při ukončeném 11. týdnu těhotenství. Při odběru PAPP-A při ukončeném 10. týdnu těhotenství by byla FPR 5,3 % (8).

### **Indikace NT v prvním trimestru na podkladě zhodnocení PAPP-A a následná biochemie druhého trimestru**

Jedná se o určité specifikum, kdy je ve stavu nouze o lékařské certifikované u Fetal Medicine Foundation London k provádění ultrazvukového screeningového vyšetření v prvním trimestru nabíráno PAPP-A v prvním trimestru a v případě jeho nízké hladiny je indikováno zhodnocení NT. Je tedy snaha vybírat těhotné, které se na podkladě zvýšené hladiny PAPP-A jeví jako rizikovější a nabídnout jim ultrazvuk u certifikovaného sonografisty. Ženám, které se jeví dle PAPP-A jako nerizikové, je pak provedena biochemie druhého trimestru (v podstatě sérum integrovaný test). Z dosavadních praktických zkušeností se tato varianta screeningového testu jeví jistě jako efektivnější, než běžně prováděný triple nebo double test v druhém trimestru. K adekvátnímu posouzení efektivity testu však zatím chybí validní publikovaná data.

Jsou publikována data, hodnotící variantu prvotrimestrálního screeningu, kde je všem těhotným nabírána biochemie (PAPP-A a volná podjednotka beta-hCG) a kombinována s věkem pro stanovení rizika. K měření šířového projasnění jsou pak indikovány jen ty těhotné, které mají střední riziko (jedná se o variantu kontingenčního testu – viz dále). Takovéto schéma screeningu má odhadovanou detekci trizomie 21 80–90% při falešné pozitivitě 4–6%. Je však třeba nepamětat na to, že publikovaná data nejsou prospektivní studií, ale retrospektivním zhodnocením dat těhotných prošlých kompletním kombinovaným testem. Biochemie u nich tedy byla hodnocena se znalostí měření CRL, které bylo provedeno řádně proškoleným sonografistou. Právě hodnocení biochemie bez řádného ověření resp. korekce stáří gravidity je zásadní slabinou čistě biochemických schémat screeningu resp. jeho čistě biochemických kroků. Zastánci čistě biochemických schémat screeningu argumentují tím, že CRL změří každý sonografista, tedy i ten bez licence a auditu u FMF. To bohužel není pravda resp. kvalita takového měření nemusí být odpovídající a spolehlivost měření CRL je zcela klíčová ve všech screeningových programech, které pracují s číselným vyjádřením rizika (9). Šířové projasnění nakonec též dokáže změřit každý. Jen bez pravidelného auditu je kvalita jeho měření nejasná a nejistá.

### **Kontingenční testy**

Označení kontingenční test je obecný pojem. Jedná se o princip testu, jenž v prvním kroku rozřadí těhotné na tři

skupiny dle rizika – velmi nízké riziko, střední a nízké. Těhotné s velmi vysokým rizikem představují velmi malé procento z celé populace (většinou kolem 1 % populace), ale vysoké procento postižených plodů. Těmto vysoce rizikovým těhotným je po prvním kroku screeningu nabídnuta karyotypizace. Těhotné s velmi nízkým rizikem představují naprostou většinu populace a jen velmi malý počet postižených plodů. Těmto těhotným je screening prvním krokem uzavřen a další testování se neprovádí. Těhotným se středním rizikem (většinou kolem 15 % populace) se provádí další krok testu a to buď v rámci prvního trimestru (NB, TR, DV, FA, HA) (viz Kontingenční test v prvním trimestru), nebo v trimestru druhém (AFP, hCG, uE3, inhibin A). Na podkladě tohoto provedení druhého kroku testu (pochopitelně hodnoceného integrovaně s krokem prvním) je riziko definitivně hodnoceno jako nízké, nebo vysoké.

### **Kontingenční test kombinující první a druhý trimestr**

Existuje nespočet variant. Liší se hlavně v následujícím:

1. Které markery (ultrazvukové a biochemické) prvního a druhého trimestru jsou zařazeny a v jakém gestačním stádiu jsou stanovovány.
2. Jaká je cut-off pozitivita v prvním trimestru. Od cut-off pozitivita v prvním trimestru se odvíjí nejen celková DR a FPR, ale i to, jaké procento plodů s aneuploidii je zachyceno v prvním trimestru a jaké až v druhém. Tento aspekt není na první pohled zcela zřejmý. Jedná se o to, že v rámci kontingenční strategie kombinující první a druhý trimestr je karyotypizace po prvotrimestrálním kroku nabídnuta pouze vysoce rizikovým těhotným. Definice hranice „vysoké pozitivita“ je různá. V publikovaných studiích, které vykazují přijatelnou falešnou pozitivitu se cut-off pro indikaci CVS po provedení kombinovaného testu pohybuje v rozmezí 1:9 až 1:30. Při provádění samostatného kombinovaného testu nebo kontingenčního testu v prvním trimestru je za cut-off pozitivita považováno většinou riziko v rozmezí 1:100 až 1:300. Při provádění kontingenčního testu kombinujícího první a druhý trimestr jsou plody s Downovým syndromem s rizikem z kombinovaného testu v rozmezí od 1:9 resp. 1:30 do 1:100 resp. 1:300 diagnostikovány až v druhém trimestru.

Od definice skupiny se středním rizikem se odvíjí i procento pacientek, kterým je provedena biochemie v druhém trimestru. Obecně s nárůstem procenta těhotných, které jsou vyšetřeny i v druhém trimestru za cenu minimálního zvýšení detekce, značně narůstá FPR (stres těhotných, finanční náklady).

Výhody kontingenčního přístupu kombinujícího první a druhý trimestr:

1. U těhotných s velmi vysokým rizikem je diagnostika prováděna v prvním trimestru, není odkládána do trimestru druhého jako u integrovaného testu.
2. Test má možnost kombinovat všechny relevantní markery prvního a druhého trimestru.
3. Oproti sekvenčnímu testu je druhotrimestrální krok prováděn jen malému procentu populace (v navržených modelech obvykle kolem 15 %). Zbylou většinu populace s nízkým rizikem je tedy možno uklidnit, omezit stres z „nedokončení“ testu v prvním trimestru a provádění ještě kroku druhotrimestrálního. Evidentní je též vyšší finanční efektivita oproti testu sekvenčnímu.

4. Podle matematických modelů může mít tato strategie vysokou výtěžnost z pohledu výše detekce, falešné positivity a finančních nákladů. Detekce může být kolem 95 % při falešné pozitivitě pod 3 % (což je ovšem zcela obdobná DR a FPR jako kontingenčního testu v prvním trimestru, kde je veškerá diagnostika provedena v prvním trimestru).

Nevýhody kontingenčního přístupu kombinujícího první a druhý trimestr:

1. Diagnostika určitého procenta plodů, které by při čistě prvotrimestrální strategii byly diagnostikovány v prvním trimestru, se přesouvá do trimestru druhého.
2. Určité procento (odhadem minimálně 5 % těhotných) se ze schématu po prvotrimestrálním kroku ztratí (viz Integrovaný test).
3. Dosud není dostupná prospektivní evidence, jsou publikovány pouze studie retrospektivní a matematické modely.

### **Fetální DNA v mateřské plazmě**

Od roku 1997, kdy byla publikována první práce o fetální DNA v mateřské cirkulaci, je do této metody vkládána naděje na možnou neinvazivní prenatalní diagnostiku nahrazující klasické invazivní metody – amniocentézu a biopsii choria. Kritéria pro diagnostický test tato metoda bohužel přes veškerý výzkum a rozvoj zatím nespĺňuje, neboť má pro diagnostický test neúnosnou falešnou negativitu a pozitivitu. Podle posledních publikovaných studií se však zdá, že by se vyšetření fetální DNA v mateřské cirkulaci mohlo v budoucnu stát jedním z testů pro screening rizika Downova syndromu (7,9). Dle těchto studií má tato metoda více jak 98 % záchyt při 0,2–2% falešné pozitivitě u vysoce rizikové populace těhotných. Hladina falešné pozitivita je však závislá na rizikovosti populace, u které je test prováděn. Dosavadní publikované studie byly zaměřeny na vysoce rizikové populace těhotných, které vzhledem k svému riziku pro Downův syndrom byly indikovány k invazivnímu stanovení karyotypu. V současné době není publikována studie hodnotící efektivitu tohoto vyšetření jako screeningového vyšetření tj. u těhotných s nízkým rizikem resp. bez apriorně stanoveného rizika. Dá se předpokládat, že minimálně falešná pozitivita bude v případě populačního screeningu vyšší a též detekce nemusí dosáhnout hladin publikovaných u rizikových populací. Pro zařazení testu do klinické praxe screeningu Downova syndromu tedy zatím není dostatečná evidence. Dalším limitujícím faktorem pro zařazení do screeningu Downova syndromu bude velmi pravděpodobně cena vyšetření, která se v současnosti pohybuje kolem 2 tisíc amerických dolarů (asi 36 tisíc korun českých).

### **Evidence**

#### ***SURUSS a SURRUS in Perspective***

Jedná se o studii porovnávající výtěžnost jednotlivých screeningových strategií (8,10). Studie byla prospektivní a zahrnovala 47 053 jednočetných těhotenství, mezi nimi 101 plodů s Downovým syndromem. SURUSS a následně rozšířená studie SURRUS in Perspective zahrnují double, triple a quadruple test, kombinovaný test, integrovaný, sérum integrovaný a sekvenční test. Následující tabulka ukazuje přehled výsledků této studie.

Studie SURRUS byla v době své publikace největší prospektivní studií porovnávající jednotlivé testy. Vykazuje

**Tab. 1** Hladina detekce (DR) a falešné pozitivita (FPR) jednotlivých strategií screeningu trizomie 21 dle studie SURRUS

Test	FPR při 85% DR	DR při 5% FPR	Gestační stáří při výsledku testu
Kombinovaný test	4,7 %	86,0 %	12 – 14
Quadruple test	6,2 %	83,3 %	16 – 21
Triple test	9,3 %	77,0 %	16 – 21
Double test	13,0 %	66 % (celá molekula hCG) 71 % (volná podjednotka beta-hCG)	16 – 21
Integrovaný test	0,9 %	94,0 %	16 – 21
Sérum integrovaný test	2,7 %	87,0 %	16 – 21

však vážné metodické chyby, které značně znehodnocují její výsledky.

Ve studii SURRUS nebyla dodržena kritéria měření NT dle FMF Londýn (NT měřeno mezi 6.–16. týdnem). Publikované rozbor studie prokazují nedostatečnou erudici sonografistů (u 7 % pacientek mezi 11.–13. týdnem se sonografistům vůbec NT nepodařilo změřit; u 9 % pacientek, kde bylo NT změřeno, žádný z uložených obrázků nesplňoval kritéria pro měření NT; z 85 postižených plodů nebyl u 10 plodů uložen obrázek, který by splňoval kritéria měření NT) (6). Nekvalitní měření NT se pochopitelně promítá do výsledků kombinovaného testu, které byly publikovány. Následně jsou tyto výsledky porovnávány s ostatními, čistě biochemickými strategiemi, které jsou prováděné odpovídajícím způsobem (akreditované laboratoře, certifikované přístroje, kity, školený personál).

Pro současnou praxi je tedy z této studie využitelné jen zhodnocení čistě biochemických screeningových strategií. Pro jejich aplikaci při konzultaci pacientek v našich podmínkách je však třeba pamatovat na to, že integrovaný a sérum integrovaný test v této studii zahrnoval v druhém trimestru quadruple test, tedy i inhibin A. Ten u nás standardně není vyšetřován. Jeho vyjmutí z druhotrimestrální biochemie integrovaného a sérum integrovaného testu sníží detekční hladinu těchto testů. Dle výsledků srovnání triple a quadruple testu v SURRUS studii lze odhadnout toto snížení o asi 6 % (viz **Tab. 1**, sloupec srovnání detekce při 5% FPR). Detekční hladinu veškeré druhotrimestrální biochemie snižuje i nahrazení vyšetřování volné podjednotky beta-hCG vyšetřováním celé molekuly hCG.

### FaSTER

Jedná se o studii výtěžnosti prvotrimestrálního, druhotrimestrálního screeningu a jejich kombinací. Byl porovnáván test kombinovaný, quadruple test v druhém trimestru, integrovaný test (integrující kombinovaný test a quadruple test) a test sekvenční a sérum integrovaný (11). Hlavní závěry studie vyznívají tak, že:

1. Kombinovaný test v prvním trimestru, provedený v 11. týdnu těhotenství, má lepší výsledky než quadruple test.
2. Kombinovaný test provedený ve 13. týdnu těhotenství má srovnatelné výsledky s quadruple testem.

Integrovaný test dosahuje vysoké detekce trizomie 21 při nízké falešné pozitivitě. Obdobný potenciál má i sekvenční test s integrovaným hodnocením druhého trimestru. Stejně jako u SURRUS studie panují pochybnosti o dostatečném proškolení sonografistů měřících NT a tedy o celkové kvalitě posuzovaných dat. Měření NT se nezdařilo u 7,1 % pacientek, což absolutně neodpovídá jiným publikacím, ani klinické praxi. Stejně jako u studie SURRUS jsou tedy porovnávány výsledky ne zcela adekvátně provedeného prvotrimestrálního testu s precizně provedeným čistě biochemickým screeningem (druhotrimestrální quadruple test a sérum integrovaný test). Při aplikaci výsledků této studie v naší praxi konzultace pacientek je třeba vzít v úvahu i to, že veškerá druhotrimestrální biochemie je ve studii postavena na quadruple testu, který má vyšší výtěžnost než u nás běžně prováděný triple nebo double test. I přes vědomí toho, že prvotrimestrální ultrazvuk nebyl prováděn úplně optimálně, je myslím dobré si všimnout výsledků sekvenčního testu, které publikovala studie FaSTER. Při cut-off 1:150 kombinovaného testu v 1. trimestru a 1:300 quadruple testu v druhém trimestru byla DR 94% a FPR nepřijatelných 11 % (11).

### Matematické modely (Gekas et al.)

Jedná se o matematický model srovnání finančních nákladů a výtěžnosti 7 screeningových strategií prvního a druhého trimestru (12). Jako test s nejvyšší efektivitou z pohledu finančních nákladů vychází z této studie kontingenční test zahrnující první i druhý trimestr. Kombinovaný test je hodnocen nejen jako nejdražší, ale též jako test s nejvyšším procentem těhotenských ztrát souvisejících s invazivní karyotypizací. Zásadní slabinou studie je, že kalkuluje efektivitu detekce a finanční efektivitu na základě dat ze studií FaSTER a SURRUS, tedy studií, kde prvotrimestrální screening nebyl prováděn odpovídajícím způsobem (viz výše). Vzhledem k tomu, že data pro tuto matematickou studii pocházejí z výše uvedených studií, chybí mezi porovnávanými testy neefektivnější prvotrimestrální test, kterým je kontingenční test v prvním trimestru. Výsledky studie jsou opravdu nejen poněkud zářející, ale neodpovídají závěrům prospektivních studií provedených na stotisícových souborech těhotných (tedy

větších, než byly původní populace studií SURUSS a FaSTER). Sám autor v závěru diskuze píše, že výsledky této studie by neměly sloužit jako podklad k jakékoliv změně současné praxe provádění screeningu Downova syndromu (12).

### **Přehledový článek o screeningu fetálních aneuploidii v 11.–13. týdnu těhotenství (Nicolaidis 2011) (4)**

Počátkem roku 2011 byl publikován zásadní přehledový článek na téma screeningu aneuploidii plodu v 11. až 13. týdnu těhotenství (4). Článek podrobně mapuje historii a vývoj screeningu Downova syndromu a dalších aneuploidii a kromě samotného porovnání výtěžnosti přehledně popisuje a osvětluje i méně známé výhody a nevýhody jednotlivých strategií. Ze zásadních faktů pro naši současnou praxi je snad možno zmínit následující: Cut-off pozitivitu prvního známého screeningového faktoru Downova syndromu, tedy věku matky, byl nastaven v době, kdy populace těhotných nad 35 let tvořila 5 % celkové populace těhotných a v této populaci bylo možno detekovat 30 % plodů s Downovým syndromem. V současné době je těhotných nad 35. rokem kolem 20 % a v jejich populaci je asi 50 % všech plodů s Downovým syndromem. Efektivita biochemie prvního trimestru (DR, FPR) je vyšší v 9.–10. týdnu těhotenství, než ve 13. týdnu. Rozdíl hladiny PAPP-A mezi plody euploidními a aneuploidními je větší v časnější fázi těhotenství. U volné podjednotky beta-hCG naopak rozdíl s postupující gestací roste. Rozdíl u PAPP-A v časném těhotenství je ale větší, než u hCG ve vyšším gestačním stádiu a proto v případě současného náběru obou analytů má vyšší výtěžnost náběr v časnější fázi těhotenství. Nejzásadnější tři faktory, které mohou způsobovat podměření nebo nadměření hodnoty NT jsou: 1) nesprávné zhodnocení, které místo představuje nejširší rozměr nuchální translucence, 2) nastavení zesílení na příjmu (gainu), 3) přesné umístění kaliperů na linii NT. Na stotisícových souborech bylo prokázáno, že šířkové projasnění lze úspěšně změřit u 99 % těhotných. Riziko chromozomální aberace roste s věkem matky i s hodnotou šířového projasnění. U plodů s nízkou hodnotou NT je riziko aneuploidie nižší, než původní riziko věkové. Nejvyšší efektivitu prvotrimestrálního screeningu je možno dosáhnout kombinací věku matky, biochemie a zhodnocení NT a nových ultrazvukových markerů (NB, TR, DV, FA, HA) – při cut-off 1:100 je detekce trizomie 21 kolem 95 % při falešné pozitivitě 2,5 %. U biochemie druhého trimestru článek upozorňuje na to, že pokud je v testu použita celá molekula hCG místo volné podjednotky beta-hCG, má test asi o 5 % nižší detekci. Článek se přehledně věnuje i problematice screeningu u vícečetného těhotenství. Veškerá argumentace článku je podložena evidencí. V článku je publikována velmi přehledná tabulka výtěžnosti 12 různých kombinací faktorů screeningových programů (věk, ultrazvukové a biochemické markery prvního, druhého a kombinace obou trimestrů). Článek je volně přístupný na webu (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pd.2637/pdf>).

### **Populační studie (Dánsko)**

Výsledky multicentrických studií podporují i publikované výsledky z Dánska. Zde se nejedná o matematický model nebo studii ze specializovaného pracoviště, ale o výsledky v praxi prováděného populačního screeningu. V letech

2004–2006 byl v Dánsku zaveden jednotný populační screeningový test (kombinovaný test) poskytovateli licencovanými u FMF Londýn a jednotnou databází pro všechny národní pracoviště (Astraia). Během 3 let se podařilo pokrýt dostupností kombinovaného testu celou populaci (5,4 mil. obyvatel, 65 tisíc porodů ročně). V roce 2006 bylo dosaženo 92 % prenatalní detekce Downova syndromu při 3,3 % falešné pozitivitě (13). Tato publikovaná hladina detekce již počítá s korekcí vzhledem k procentu spontánních potratů plodů s Downovým syndromem po 12. resp. 14. týdnu těhotenství. Dánské výsledky ukazují přenositelnost efektivitu kombinovaného testu ze specializovaného pracoviště do běžné praxe populačního screeningu.

### **Jaký test volí dnes ve světě?**

Varietou screeningového programu preferovaného odbornými společnostmi velkých ekonomicky vyspělých států (Anglie, USA, Kanada) je takový program, který má uspokojivou detekci při přijatelné falešné pozitivitě a je spíše preferováno uzavření testu v prvním trimestru. „Uspokojivá detekce“ a „přijatelná falešná pozitivita“ samozřejmě nejsou jasně definovány. V současnosti platný požadavek závazných doporučení RCOG (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists - odborná gynekologicko-porodnická společnost ve Velké Británii) na screeningový test pro Downův syndrom je DR více jak 90% při FPR méně než 2% (14). Požadavek SOGC (Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada - Kanadská odborná gynekologicko-porodnická společnost) na screeningový test je DR více jak 75%, FPR méně než 3% (15). V USA není podobný požadavek na test definován. Jsou vyjmenovány ty neinvazivní testy, které jsou z hlediska výtěžnosti považovány za adekvátní pro screening a jsou definovány požadavky na jejich provedení. Zásadním požadavkem na prvotrimestrální test je, že všechna schémata, v nichž je zařazeno NT, jsou považována za adekvátní pouze v případě, kdy je sonografista certifikován a prochází pravidelným auditem kontroly kvality (16).

### **Závěr**

Invazivní výkony prenatalní diagnostiky (amniocentéza, CVS, kordocentéza) jsou zatíženy rizikem ztráty těhotenství a vysokými náklady. Neinvazivní prenatalní diagnostika aneuploidii z fetální DNA v mateřské plazmě zatím pro svou vysokou falešnou pozitivitu a falešnou negativitu stále není využitelná v klinické praxi. Proto je třeba populaci, která si přeje prenatalní diagnostiku aneuploidii, nabídnout screeningový program. Screeningový program by měl mít při přijatelné hladině falešné pozitivitě vysokou detekci. Neefektivnějším screeningovým testem z pohledu FPR a DR je integrovaný test. Jeho zásadním problémem je však jeho praktické provedení diskutované v tomto článku. Druhým neefektivnějším a v praxi dobře proveditelným testem je kontingenční test v prvním trimestru, tedy kombinovaný test rozšířený o nové ultrazvukové markery prvního trimestru. Za tímto testem též stojí, na rozdíl od mnoha ostatních programů, rozsáhlá prospektivní evidence. Proto se kontingenční test v prvním trimestru nabízí v současné klinické praxi jako metoda první volby screeningového programu Downova syndromu. Detekční schopnost kombinovaného testu bez nových ultrazvukových markerů prvního trimestru je nevýznamně

nižší než testu kontingenčního (jen asi o 3 %). Publikované výsledky z Dánska s jednotným populačním screeningovým testem (kombinovaný test), prováděným sonografisty licencovanými u FMF Londýn a jednotnou databází pro všechny národní pracoviště (software Astraia) ukazují přenositelnost efektivitu kombinovaného testu ze specializovaného pracoviště do běžné praxe populačního screeningu (13). Je dostatek evidence pro tvrzení, že bez spolehlivé ultrazvukové biometrie plodu v I. trimestru a tedy správné datace těhotenství není screening aneuploidii dostatečně spolehlivý (čistě biochemické screeningové programy prvního a druhého trimestru). Snad jen těhotným, u kterých je gravidita diagnostikována až po prvním trimestru či v oblastech, kde kombinovaný nebo kontingenční test v prvním trimestru provedený auditovaným sonografistou a auditovanou biochemickou laboratoří není dostupný, lze nabídnout ostatní postupy screeningu, detailně diskutované v tomto článku. V neposlední řadě nutno také konstatovat, že ultrazvukové vyšetření na konci prvního trimestru plní další nezastupitelnou a možná ještě důležitější úlohu než výpočet rizika aneuploidii - stanovení biometrie a morfologie plodu s možností záchytu vysokého procenta strukturních vad plodu (17).

#### Literatura

- Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(3):CD003252
- Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation- specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13:167-70
- Halliday JL, Watson LF, Lumley J, Danks DM, Sheffield LJ. New estimates of Down syndrome risks at chorionic villus sampling, amniocentesis and livebirth in woman of advanced maternal age from uniquely defined population. *Pren Diagn.* 1995;15:455-465
- Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat Diagn.* 2011;31:7-15
- Mulvey S, Wallace EM. Women's knowledge of an attitudes to first trimester screening for Down's syndrome. *BJOG.* 2000;107:1302-5
- Lau TK, Leung TY. Prenatal screening and diagnosis of fetal chromosomal abnormalities – dilemma between evidence-based model and practicability. *Fetal and Maternal Medicine Review.* 2009;20:2:161-177
- Calda P, Viskova (Belosovicova) H, Bezdickova D, Zima T. Prenatal diagnostics during the first trimester in clinical practice. *Cas Lek Cesk.* 2006;145(7):575-7
- Wald NJ, Rodec AK, Hackshaw AK, Rudnicka A. SURUSS in Perspective. *Semin Perinatol.* 2005;29:225-235
- Wright D, Kagan KO, Molina FS, Gazzoni A, Nicolaides KH. A mixture model of nuchal translucency thickness in screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Apr;31(4):376-83
- Wald NJ, Rodec C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the result of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen.* 2003;10(2):56-104
- Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Wald NJ et al. First-Trimester or Second-Trimester, or Both, for Down's Syndrome. *N Engl J Med.* 2005;353:2001-2011
- Gekas J, Durand A, Bujold E, Vallee M, Forest JC, Rousseau F, Reinharz D. Cost-effectiveness and accuracy of prenatal Down syndrome strategies: should the combined test to be widely used? *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204:175.e1-8
- Ekelund CK, Jorgensen FS, Petersen OB, Sundberg K, Tabor A. Impact of new national screening policy for Down's syndrome in Denmark: population based cohort study. *BMJ.* 2008;337:a2547
- Fetal Anomaly Screening Programme – Screening for Down's Syndrome: UK NSC Policy recommendations 2007-2010:Models of Best Practice
- SOGC Clinical Practice Guideline. *J Obstet Gynecol Can.* 2007;29(2):146-161
- Aetna, Clinical Policy Bulletin: Noninvasive First trimester Down Syndrome Screening, Number: 0282
- Sonek J, Calda P. Ultrazvukové vyšetření plodu a screening v prvním trimestru in Calda P. a kol. Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii. 2. kompletně přeprac. a rozš. vyd. Praha: Aprofema, 2010. 496 s. ISBN 978-80-903706-2-3