

## Význam nejistoty měření při antenatálním screeningu Downova syndromu

Jaroslav Loucký  
Imalab s.r.o.

Korespondenční adresa:

RNDr. Jaroslav Loucký, IMALAB s.r.o., U Lomu 638, 76001 Zlín, tel.: 602303098, fax: 577001637,  
e-mail: loucky@imalab.cz, www.imalab.cz

Publikováno: 2. 7. 2010      Přijato: 26. 5. 2010      Akceptováno: 28. 6. 2010  
Actual Gyn 2010, 2, 5-9      ISSN 1803-9588      © 2009, Aprofema s.r.o.  
Článek lze stáhnout z [www.actualgyn.com](http://www.actualgyn.com)



Citujte tento článek jako: Loucký J. Význam nejistoty měření při antenatálním screeningu Downova syndromu. Actual Gyn. 2010;2:5-9

### UNCERTAINTY OF THE MEASUREMENTS IN ANTENATAL SCREENING FOR DOWN'S SYNDROME

#### Review article

#### Abstract

Prenatal screening for Down's syndrome and some other chromosomal abnormalities is currently based on maternal blood tests and ultrasound examinations. Results of quantitative measurements are used for the risk evaluation. Effectivity of screening models is influenced by the selection of markers and by the quality of measurements. The article gives a basic overview of the uncertainty of measurements and shows how it could influence the whole screening process. The preanalytical phase of the biochemical tests is not discussed in this article, although it could also affect the screening process.

#### Key words:

measurement, uncertainty, biological variation, screening, Down's syndrome

#### Přehledový článek

#### Abstrakt

Prenatální screening Downova syndromu a některých dalších chromozomálních aberací je v současnosti prováděn pomocí biochemických testů, případně kombinovaných s ultrazvukovým vyšetřením. V obou případech se provádějí kvantitativní měření veličin, která se dále využívají pro stanovení rizika přítomnosti hledaného onemocnění plodu. Účelem článku je upozornění na skutečnost, že efektivita screeningových programů nemusí být ovlivněna pouze volbou konkrétních parametrů, ale také kvalitou měření těchto parametrů. Článek poskytuje základní informaci z oblasti nejistot měření a uvádí je do souvislosti s běžnou praxí při provádění screeningu Downova syndromu. V článku není diskutována preanalytická fáze, která biochemickým měřením předchází a výsledky těchto měření může také ovlivnit.

#### Klíčová slova:

měření, nejistota, biologická variabilita, screening, Downův syndrom

## Prenatální screening jako výsledek mezioborové spolupráce

V biologických vědách existují způsoby získávání informací, které jsou založeny na kombinování poznatků a měření pocházejících z různých zdrojů. Jedním z příkladů mezioborové spolupráce v medicíně je screening Downova syndromu a některých dalších chromozomálních aberací. Na tomto typu vyšetřování se podílejí gynekologové, biochemici, ultrazvukoví specialisté a genetici. Pracovníci těchto odborností přispívají různou mírou informacemi, které jsou pro provádění screeningu potřebné. Tyto údaje mohou mít jednak charakter anamnestických dat, ale také charakter výsledků určitých měření, které byly u těhotné, eventuálně u plodu, nalezeny. Z hlediska vyhodnocování se jedná o poměrně složitý postup, jehož výsledkem je stanovení rizika (pravděpodobnosti), přičemž je nutné si uvědomit, že každý vstupující údaj ovlivní určitým způsobem celkový výsledek. V zásadě existují dva zdroje výsledků, které se v tomto typu screeningu využívají. Jsou to jednak výsledky měření obsahu specifických biochemických látek v krevním oběhu těhotné ženy a jednak měření fetálních biometrických parametrů prostřednictvím ultrazvuku. Základním požadavkem pro smysluplné provádění tohoto typu screeningu je sledování kvality všech měřených parametrů, které se na celkovém výsledku podílejí, a uvědomění si možných omezení a zdrojů chyb, které mohou tato měření ovlivnit.

## Metrologický přístup jako základ sledování kvality měření

Klasická metrologie byla oborem, který dříve nacházel svoje uplatnění zejména ve fyzice, kdy prostřednictvím definovaných etalonů byla porovnáвана kvalita měření různých fyzikálních veličin. V posledních zhruba 15 letech došlo k výraznému vstupu metrologie také do chemických a biochemických laboratoří. Smyslem tohoto počínání je snaha o unifikaci výsledků vydávaných laboratořemi a popis toho, jak se mají laboratoře chovat, aby jejich vyšetření bylo možno nejen považovat za návazná z pohledu metrologie, ale také to, aby každá laboratoř dokázala určit s jakou kvalitou to či ono vyšetření provádí. Parametrem, který se pro toto hodnocení v metrologii používá, je nejistota měření. Jedná se o souhrnný parametr, zahrnující nejrůznější typy chyb, které jakékoliv měření doprovázejí. Termín nejistota měření je obecně přijatý a používán u všech druhů kvantitativních výsledků zkoušek (1). Mezi základní zásady např. patří, že:

- vyhodnocení nejistoty je komplexní a zahrnuje všechny významné zdroje chyb měření
- s nejistotami, pocházejícími jak z náhodných, tak systematických jevů, se zachází rovnocenně, tzn., že jsou vyjádřeny a kombinovány jako rozptyly přiřazených rozdělení pravděpodobností

Z praktického hlediska bychom pro jakékoliv měření, u něhož chceme stanovit nejistotu, měli splnit několik základních požadavků a mít (2):

- jasnou definici měřené veličiny
- vyčerpávající specifikaci měřicí metody (postupu) a měřených položek
- vyčerpávající analýzu všech zdrojů, které mají vliv na výsledek měření

Nejistota měření je tedy definována jako parametr přidružený k výsledku měření, charakterizující rozptýlení hodnot, jež jsou na základě dostupných informací přisuzovány měřené veličině. Můžeme také říct, že nejistota měření vymezuje hranice, v nichž je výsledek s určitou pravděpodobností považován za správný.

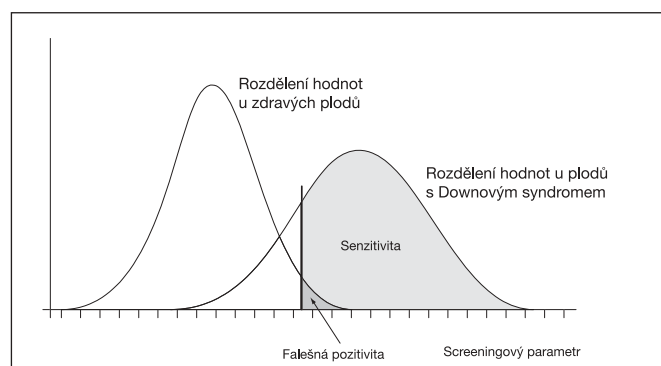
Všechny výše uvedené skutečnosti beze zbytku platí pro měření ve fyzikálních, zkušebních, případně analytických laboratořích, ve kterých se provádějí měření na neživých systémech.

## Měření kvantitativních parametrů u biologických systémů

Na rozdíl od neživé přírody, kde při sledování kvality měření různých parametrů vystačíme s nejistotou měření, je situace u biologických systémů komplikovanější. Na jedné straně samotný akt měření je analogický s tím, co bylo popsáno výše, na druhé straně musíme vzít do úvahy vlastnost živých systémů, kterou nazýváme biologickou variabilitou (3). Biologická variabilita je vlastnost živých systémů, která odráží unikátní stav sledovaného jedince v závislosti na čase, podmínkách a také např. v porovnání s dalšími jedinci srovnatelné skupiny. Z tohoto pohledu se biologická variabilita dělí na:

- intraindividuální
- interindividuální

Intraindividuální biologická variabilita je definována jako variabilita, podmíněná fyziologickými a patologickými změnami, které se týkají individua, a je to variabilita s vysokým podílem genetického pozadí. Naopak interindividuální biologická variabilita je podmíněná fyziologickými a patologickými rozdíly mezi jedinci a ovlivňuje šířku referenčního rozmezí. Tato skutečnost má nesmírný význam při běžné interpretaci biochemických vyšetření, kdy posuzujeme, zda výsledek leží v referenčním intervalu, který považujeme za fyziologický, eventuálně leží mimo tento interval a může naznačovat přítomnost patologického procesu. Z hlediska screeningu Downova syndromu se interindividuální biologická variabilita uplatňuje jako faktor tvořící distribuční křivky hodnot jednotlivých parametrů, ať už biochemických nebo ultrazvukových, u těhotenství se zdravým plodem a také u těhotenství s Downovým syndromem (**obr. 1**). Pokud by existoval ideální marker pro screening Downova syndromu, tak by se u něj plocha distribučních křivek těhotenství se zdravým a postiženým plodem vůbec nepřekrývala a tento screeningový marker by se stal markerem diagnostickým (**obr. 2**). V praxi je ovšem situace taková, že vždy



Obr. 1 Příklad distribučních křivek screeningových parametrů

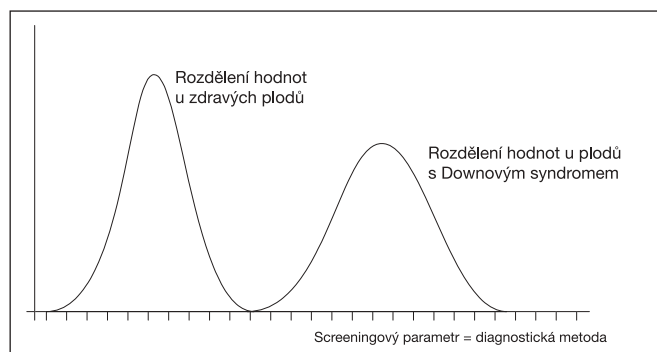
dochází k většímu či menšímu průniku křivek, což se ve výsledku screeningu může projevit tím, že existuje zdravý plod, který má atypickou hodnotu některého z markerů, svědčící o vyšším riziku přítomnosti Downova syndromu, nebo naopak existuje plod s Downovým syndromem, který z pohledu měřených výsledků toto zvýšené riziko nevykazuje. Je patrné, že měření jakékoli kvantitativní veličiny u živých systémů je tedy ovlivněno jednak nejistotou měření a jednak interindividuální biologickou variabilitou. Vztah mezi těmito dvěma faktory lze matematicky vyjádřit následujícím způsobem (3):  $SD_T = \sqrt{SD_A + SD_I}$ , kde  $SD_T$  je celková variabilita měření,  $SD_A$  je analytická variabilita měření (nejistota) a  $SD_I$  je interindividuální biologická variabilita.

### Modely screeningu Downova syndromu a vliv nejistot měření

V současné době existuje několik modelů screeningu Downova syndromu, které rozlišujeme podle využívaných parametrů. Tento typ screeningu můžeme v zásadě provádět buď jako biochemický, s využitím pouze stanovení biochemických parametrů, nebo kombinovaný, s využitím biochemických a ultrazvukových parametrů. Počet biochemických i ultrazvukových parametrů se může lišit v závislosti na regionálních zvyklostech a také v závislosti na dostupnosti kvalitního pracoviště provádějícího ultrazvuková vyšetření. Jak již bylo řečeno, výsledek tohoto typu screeningu je závislý na kvalitě měření jednotlivých screeningových markerů. Jediný parametr, který do screeningu Downova syndromu vstupuje a není ovlivnitelný měřením, je věk matky. Benn a Collins (4) sledovali jak může nejistota biochemických měření ovlivnit výsledek screeningu. Práce zcela jednoznačně prokázala, že interval spolehlivosti (CI) výsledku screeningu se rozšiřuje se vzrůstající nejistotou měření. Ukazuje se, že zejména hraniční výsledky se mohou v závislosti na kvalitě měření měnit z pozitivních na negativní a naopak. Tato situace je navíc komplikovaná tím, že roli hraje i věk matky a tentýž biochemický výsledek, doprovázený určitou nejistotou měření, má na celkový výsledek screeningu naprosto odlišný dopad u žen různého věku.

### Určení délky těhotenství pomocí UZ – jedna z měřených veličin

Tato modelová situace platí za předpokladu, že existuje jednoznačně definovaný a přesný způsob určení délky těhotenství v okamžiku, kdy se měření biochemických a ultrazvukových parametrů pro účely screeningu provádí. Na přesnosti tohoto určení v podstatě závisí kvalita celého screeningového vyšetření. Předpokládejme např. situaci, že máme nesprávně stanovenou délku těhotenství a s velmi malou nejistotou, tedy správně, provedená biochemická, příp. ultrazvuková vyšetření využívaná v algoritmu výpočtu rizika Downova syndromu. V tomto případě bude výsledné riziko výrazně ovlivněno právě nesprávným určením délky těhotenství, přestože jsme vlastní měření všech používaných veličin screeningu provedli správně. Správné stanovení délky těhotenství je tedy základním momentem, bez kterého nelze a nemá smysl tento typ screeningu vůbec provádět. Jedním z běžných způsobů určení délky těhotenství je v současnosti např. měření CRL dle Robinsona, kdy odečet délky



Obr. 2 Hypotetický příklad distribučních křivek vyšetřovaných parametrů u diagnostické metody

těhotenství se provádí z tabulek fetální biometrie. Z uvedeného jasně vyplývá, že z hlediska sledování kvality měření je třeba se zaměřit už na tento první krok, který je pro kvalitní provádění screeningu Downova syndromu naprosto nezbytný. Carneiro G, et al. (5) popsali metodu zpřesnění výsledků ultrazvukových biometrických měření plodu tak, aby byla eliminována chyba jednoho typu měření a výsledné určení gestačního stáří plodu bylo zatíženo co možná nejmenší nejistotou. V praxi se tento postup zatím neuplatňuje, ale ukazuje se, že i sonografisté se nad tímto zamýšlejí a hledají možnosti, jak eliminovat případné chyby. Z metrologického hlediska je totiž jakékoli měření fetálních biometrických parametrů velmi špatně definované a stanovit jeho nejistotu měření je velmi obtížné, ne-li nemožné.

### Volba parametrů ke sledování kvality UZ vyšetření a vyhodnocení mezi operátory

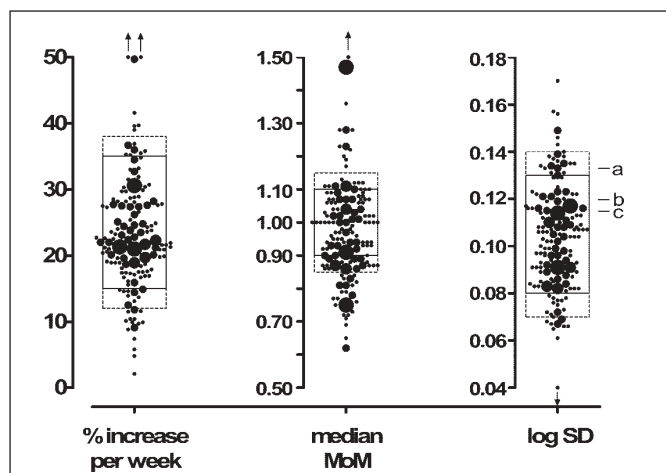
V odborném tisku byla publikována práce (6), která se přímo problematikou nejistoty měření nezaobírá, ale popisuje na velkém souboru dat, jak jsou ultrazvuková měření porovnatelná mezi operátory. Autoři zvolili pro posouzení kvality měření ultrazvukového markeru NT tři základní parametry.

- posuzovali týdenní nárůst hodnoty NT
- srovnávali, jak se měření jednotlivých UZ specialistů blížila průměrnému mediánu ze všech měření
- sledovali parametr charakterizující statistické rozdělení naměřených hodnot pomocí Gaussovy křivky – log10SD

Výsledky měření NT u jednotlivých UZ operátorů vykazovaly na souboru více než 23 tisíc měření značnou variabilitu (**obr. 3**). Týdenní nárůst hodnoty NT by měl být v optimálním případě kolem 20 % hodnoty parametru. Je patrné, že rozptyl naměřených hodnot je velmi výrazný, když část UZ operátorů vykazuje u svých měření nárůst v jednotkách procent a naopak další část měření optimální hodnotu převyšuje více než dvakrát. Podobná situace je při srovnání mediánu měření NT u jednotlivých ultrazvukistů s průměrným mediánem celého souboru. Identickou zkušenost jsme získali při vyhodnocení měření NT různými pracovníky v našem screeningovém centru. Vyhodnocení výše uvedených kvalitativních parametrů by mělo být součástí počítačových programů, které se používají pro výpočet rizika Downova syndromu.

### Ultrazvuková měření v praxi

Pokusme se převést běžnou metrologickou terminologií



Obr. 3 Výsledky publikované v článku (10) v grafické podobě

do ultrazukové praxe. Obecně platí, že nejistota měření vzniká koincencí různých druhů chyb, které měření doprovázejí (7). Výsledek ultrazukového měření tak může být ovlivněn:

- náhodnými chybami
- konstantními chybami
- proporcionálními chybami
- jinými systematickými chybami

Náhodné chyby vznikají díky různým efektům, které nejsme schopni systematicky popsat. Může to být např. díky různorodosti prostředí, ve kterém se UZ vlnění šíří, kdy může dojít k neočekávaným fyzikálním interferencím, které operátor vůbec nemusí zaznamenat. Konstantní chyba může vznikat např. díky různému přístrojovému vybavení, v tomto případě díky různé technické specifikaci ultrazukového přístroje. Proporcionální chyby vznikají při měření téhož parametru, ale vykazují závislost na velikosti měřeného parametru. Příkladem může být měření CRL v 10. týdnu těhotenství a ve 13. týdnu těhotenství. Obě měření jsou zatížena jistou chybou, ale ta zdaleka nemusí být u obou těchto měření stejná. Jiné systematické chyby mohou při ultrazukových měřeních vznikat v závislosti na operátorovi. Je zřejmé, že operátor hraje při vyhodnocování měřených UZ parametrů velmi významnou roli, ale také je zřejmé, že míru subjektivního posouzení nelze kvantifikovat. Pro způsob měření UZ markerů existují popsané postupy (8), ale tyto metodické postupy v žádném případě nemohou poskytnout informaci o tom, s jakou nejistotou je dané měření prováděno. Z pohledu nejistot měření je základním problémem UZ vyšetření skutečnost, že v praxi je v podstatě nerealizovatelné několikrát opakované měření. Pro srovnání lze uvést následující jednoduchý příklad. Pokud v biochemické laboratoři existuje vzorek, tak může být změřen desetkrát po sobě, měření může být opakováno druhý den, může být přidána nejistota kalibrátoru, která je uvedena od výrobce apod. Ze všech těchto získaných hodnot lze vypočítat, s jakou nejistotou bylo měření prováděno. Charakter ultrazukových vyšetření a celý měřicí postup, i s přihlédnutím k nemožné fixaci plodu do jedné ideální pozice, v podstatě v současnosti korektní stanovení nejistoty měření neumožňuje a závislost měření NT na CRL (délce gestačního stáří) vykazuje u různých UZ pracovníků značnou variabilitu (9). Jistou

alternativou pro posouzení subjektivního vlivu operátora by mohlo být použití video nahrávky. V tomto případě by operátor několikrát měřil zkoumaný parametr a hodnoty si ukládal, podobně jako u biochemických měření. Druhou možností, jak zpřesnit některá UZ měření, je matematické zpracování obrazu pomocí funkce, která by vyhodnocovala automaticky odstíny šedi obrazu a na základě toho provedla odečet příslušného parametru, např. NT (10).

### Závěr

Nejistota měření je doprovodný parametr všech činností, které slouží k získání kvantitativní informace o určité měřené veličině. V případě screeningu Downova syndromu se jedná o měření obsahu specifických biochemických látek v krevním oběhu matky a o měření vybraných biometrických parametrů vyvíjejícího se plodu. V případě biochemických stanovení lze nejistotu měření stanovit pomocí popsaných postupů, zahrnujících validaci a verifikaci jednotlivých metod. Dlouhodobé sledování kvality biochemických testů lze provádět pomocí interní a externí kontroly kvality. Požadavky na počet provedení a kvalitu jednotlivých testů jsou součástí doporučení odborných společností (11). V případě UZ vyšetření, jejichž výstupem je kvantitativní informace, je potřebné vzít do úvahy subjektivní prvky, které do měření vnáší konkrétní operátor. Při implementaci údajů z měření NT, by bylo vhodné považovat každého operátora za samostatný zdroj měření a jeho data zpracovávat odděleně. Pro oba typy vyšetřování platí, že nízký počet provedených měření ovlivňuje negativně kvalitu celého screeningového procesu.

### Literatura

1. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, 1st corr. Edition, ISO, Geneva 1995, (ČSN P ENV 13005, Pokyn pro vyjádření nejistoty měření, ČNI, Praha 2005)
2. EUROLAB, Revize nejistot měření: alternativní přístupy k vyhodnocení nejistot. Technická zpráva 1/2007
3. Fraser CG. Biological Variation: From Principles To Practice. AACCC Press, 2001
4. Benn PA, Collins R. Evaluation of effect of analytical imprecision in maternal serum screening for Down's syndrome. Ann Clin Biochem. 2001;38(Pt 1):28-36
5. Carneiro G, et al. System and method for fetal biometric measurements from ultrasound data and fusion of same for estimation of fetal gestational age. USPTO Application #: 20070081705 - Class: 382128000 (USPTO)
6. Palomaki G, Neveux L, Donnenfeld A, et al. Quality assessment of routine nuchal translucency measurements: a North American laboratory perspective. Genet Med. 2008;10(2):131-138
7. Concepts and practises in the evaluation of laboratory methods, Short Course 191002, AACCC Annual meeting Chicago, IL, July 19, 2009
8. The Fetal Medicine Foudation, <http://www.fetalmedicine.com/fmf/FMF-czech.pdf>, May, 2010
9. Schielen PC, van Leeuwen-Spruijt M, Belmouden I, Elvers LH, et al. Multi-centre first-trimester scree-

- ning for Down syndrome in the Netherlands in routine clinical practice. *Prenat Diagn.* 2006;26:711–718
10. Szpyrc B. Automatizované měření ultrazvukových markerů vrozených vývojových vad plodu. VUT Brno, 2008
  11. Doporučení o laboratorním screeningu vrozených vývojových vad v prvním a druhém trimestru těhotenství. <http://www1.lf1.cuni.cz/~dbezd/Doporuzeni.htm>, May, 2010