

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU  
BILTHOVEN

Rapport nr.199101006

**Risico-bepaling op foetaal Down syndroom en  
neuraalbuisdefecten door middel van alpha-1-  
foetoproteïne, ongeconjugeerd oestriol en humaan  
choriongonadotropine in matернаal serum.  
Rapportage over de periode maart 1991 t/m 1996**

A.M. Hagens

mei 1998

Medewerking is verleend door:

RIVM : M.J.Altena, G.A.M.Diependaal, L.H.Elvers, J.M.Garbis-Berkvens, M.Jonker,  
J.G.Loeber.

AZU : G.C.M.L.Christiaens, M van Rijn

Acad centra: A.M.Drenthe-Schonk, S. Kant, J.van Lith, F.Los, J.M.G. van Vugt en  
medewerkers

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu

Postbus 1, 3720 BA Bilthoven

tel. 030-2749111; fax 030-2742971

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Inspectie Gezondheidszorg in het kader van project 199101

**VERZENDLIJST**

1. Hoofdinspecteur voor de Preventieve en Curatieve Gezondheidszorg
2. Mw. M.G. de Boer, IGZ
3. J. Verhoeff, Inspectie Gezondheidszorg
4. Prof. dr. J.J. Sixma, Voorzitter Gezondheidsraad
5. Depot Nederlandse Publicaties en Nederlandse Bibliografie
6. Directie RIVM
7. Prof.dr.ir. D. Kromhout
8. Hoofd Voorlichting en Public Relations
- 9.-15. Auteurs
16. Projecten en Rapportenregistratie
17. Bibliotheek
- 18.-38. Bureau Rapportenbeheer
- 39.-50. Reserve
  
51. M.M. Rost van Tonningen-van Driel/W.E. Reuvers-Lodewijks, RIVM
52. A.J. Kuipers, RIVM
53. Dr. G.C.L.M. Christiaens, AZU, Utrecht
54. M.van Rijn,arts, Ziekenhuis Rijnstate, Arnhem
55. Dr. F.J. Los, Klinische Genetica, Rotterdam
56. Dr. A.M. Drenthe-Schonk, Klinische Genetica Maastricht
57. Dr. J. van Lith, OLVgasthuis Amsterdam
58. Dr. J.M.G. van Vugt, VU Amsterdam
59. Dr. S. Kant/Dr. Y. Hilhorst-Hofstee, Klinische Genetica, Leiden
60. Dr. R.A. Verwey, Ziekenhuis Bronovo, Den Haag
61. Dr. J.W. Briët, Deventer Ziekenhuis, Deventer
62. Prof.dr. G.H.A. Visser, AZU, Utrecht
63. Dr. J.M.J.C. Scheres, Klinisch Genetisch Centrum, Utrecht
64. Drs J. de Pater, Klinisch Genetisch Centrum, Utrecht
65. Dr. A. Mantingh, AZG, Groningen
66. Dr. J.R. Beekhuis, Ziekenhuis de Weezenlanden,Zwolle
67. Dr. H.A. Zondervan, AMC, Amsterdam
68. Prof.dr. J. Bennebroek Gravenhorst, Leiden
69. Dr. M.D. Kloosterman, Ziekenhuis Rijnstate, Arnhem
70. Dr. H.I.J. Wildschut, AZ Dijzigt Rotterdam
71. Prof.Dr. N.J. Leschot, AMC, Amsterdam
72. Prof.Dr. G. Widdershoven, Fac. Gezondheidswetenschappen, Maastricht

**INHOUD**

<b>VERZENDLIJST</b> .....	<b>2</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>SAMENVATTING</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INLEIDING</b> .....	<b>7</b>
<b>2. MATERIAAL EN METHODEN</b> .....	<b>8</b>
2.1. Analyse .....	8
2.2. Zwangerschapsduur .....	8
2.3. Risico-berekening .....	8
<b>3. POST PARTUM GEGEVENS</b> .....	<b>10</b>
<b>4. BESCHRIJVING POPULATIE</b> .....	<b>11</b>
4.1. Inzenders .....	11
4.2. Zwangeren.....	11
4.3. Trend .....	14
4.4. Leeftijdsverdeling.....	14
<b>5. RESULTATEN</b> .....	<b>17</b>
5.1. Verdeling van de MoM voor de 3 parameters in de totale populatie.....	17
5.2. Verhoogd risico.....	17
5.3. Afwijkingen en verhoogd risico op NBD, Down syndroom of trisomie 18. ....	19
5.3.1. Down Syndroom, trisomie 21.....	19
5.3.2. Andere chromosomale afwijkingen.....	21
5.3.3. Neuraalbuisdefecten en andere open defecten.....	22
5.4. Sensitiviteit en specificiteit bij Down syndroom en chromosoomafwijkingen.....	23
<b>6. DISCUSSIE</b> .....	<b>25</b>
6.1. Aantallen .....	25
6.2. Verhoogd risico afhankelijk van de leeftijd .....	25
6.3. Post-partum rapportage .....	26

<b>6.4. Verhoogd risico in combinatie met de gevonden afwijkingen .....</b>	<b>26</b>
6.4.1. Down syndroom .....	27
6.4.2. Trisomieën en andere (numerieke) chromosoomafwijkingen .....	27
6.4.3. NBD.....	28
<b>6.5. Sensitiviteit, specificiteit, positief en negatief voorspellende waarde .....</b>	<b>29</b>
<b>7. CONCLUSIE.....</b>	<b>30</b>
<b>LITERATUUR.....</b>	<b>31</b>

**ABSTRACT**

In the period of March 1991 to December 1996, a total of 14,365 sera from pregnant women were investigated for estimating the risk of fetal Down syndrome and neural tube defects. Assays of alphafetoprotein (AFP), unconjugated estriol (uE<sub>3</sub>) and intact human chorionic gonadotropin (hCG) were performed with the radioimmunoassay kits, AmerlexM. Risk of Down syndrome and neural tube defects was calculated with the computer program,  $\alpha$ . Retrospectively, the risk for trisomy 18 was also estimated on the basis of the same biochemical parameters.

This report presents an evaluation of the number of sera from each obstetrical centre and their regional distribution in cooperation with the pregnancy supervisors at these centres, representing the level of the medical profession involved in this survey. During the survey period, a new law, called the law on 'population research/investigation' ('Wet bevolkingsonderzoek'), came into effect in 1996, making it necessary to license the offer of serum screening. As a consequence, those requesting risk estimations have shifted from obstetricians to midwives. In addition, a shift in the geographical origin of the samples from the Utrecht region to the western and southern parts of the Netherlands has occurred.

Data from 14,195 pregnancies could be evaluated for 'false' positive rate; other statistical parameters may be over- or underestimated due to lack of post partum data. As far as we currently know, 29 out of the 35 known Down syndrome cases have been detected. One additional case of Down syndrome would have been detected if the risk for trisomy 18 had also been estimated. Besides the Down syndrome other (numerical) chromosomal anomalies were detected. The odds of being affected given a 'positive' Down syndrome risk estimation is at least 3.35%, while for trisomy 18, the estimated risk is at least 10% of the other aneuploidies. Since the maternal age of the pregnant women was very high and not representative of the normal Dutch population, a very high detection rate of Down's syndrome cases was found (86.3%); however, the false positive rate was also high (11.3%). It is possible to correct for the age distribution, and to calculate an expected false positive rate of 7.9% for the actual age distribution of the Dutch pregnant women, with a concomittant lower detection rate.

All cases of neural tube defects have been detected, with the exception of one case of open spina bifida, which was probably caused by the use of valproate during that pregnancy.

## SAMENVATTING

Van 1991 t/m 1996 werden 14365 sera van zwangeren ingestuurd ten behoeve van de risicobepaling op Down syndroom en neuraalbuisdefecten via AFP, uE3 en hCG, de "triple test". Aanvankelijk kwamen de aanvragen voor de triple test vooral van het AZU, later ook van andere academische centra, en tegen het eind van de verslagperiode steeds meer uit niet-academische centra en van verloskundigen en in mindere mate van huisartsen. Uitgezonderd uit Groningen, Friesland en Drenthe werden er verder uit alle andere provincies sera ingezonden.

Sinds invoering van de wet bevolkingsonderzoek (WBO) is het inzendpatroon sterk veranderd: Er vond een decentralisatie plaats, meer inzenders zonden minder sera in. Dit heeft negatieve gevolgen voor kwaliteitscontrole en voorlichting aan inzender en zwangere.

Na eliminatie van te vroeg afgenomen sera en herhalingssera uit de serumpopulatie werd een evaluatie van de risico-schatting uitgevoerd voor sera uit 14195 zwangerschappen (13930 eenlingzwangerschappen, 262 tweelingzwangerschappen en 3 drielingzwangerschappen). De leeftijdsverdeling is anders dan bij de totale Nederlandse populatie zwangeren. Vooral zwangeren in de leeftijd van 34-37 jaar waren oververtegenwoordigd.

Prospectief werd het risico op NBD via een verhoogde AFP-waarde, en op Down syndroom via het leeftijdsrisico van de zwangere en de waarden van de 3 parameters AFP, uE3 en hCG bepaald, retrospectief het risico op trisomie 18 via het leeftijdsrisico en de waarden van dezelfde 3 parameters. Van de zwangeren had 1.5% een verhoogd risico op NBD ( $\geq 2.50$  MoM voor AFP), 11.3% een verhoogd risico voor Down syndroom, en 0.5% voor Trisomie 18. Zou men deze percentages omrekenen voor de leeftijdsverdeling van de toenmalige totale populatie Nederlandse zwangeren, dan worden deze respectievelijk 1.5%, 7.9% en waarschijnlijk 0.4%.

Voor zover bekend werden alle open neuraalbuisdefecten gevonden, uitgezonderd degene die waarschijnlijk door het gebruik van valproaat was geïnduceerd! Van de tot nu toe bekende Down Syndroom gevallen was in 29 van de 35 gevallen het risico op Down syndroom verhoogd. Bovendien zou via de risico-berekening voor trisomie 18 nog één casus met Down Syndroom extra gevonden zijn. De verschillende chromosoomafwijkingen worden, afhankelijk van een eventuele associatie met andere (open) defecten, gevonden via een verhoogd risico op neuraalbuisdefecten, op Down Syndroom of op trisomie 18.

De voorlopige resultaten zijn dus indrukwekkend, de sensitiviteit is 86.4% voor alle via de 3 risico-berekeningen gevonden afwijkingen, de specificiteit is 87.1%, de positief voorspellende waarde is 3.03%, en de negatief voorspellende waarde is 99.93%.

Voor een definitieve conclusie met betrekking tot de statistische parameters is het wachten op meer post partum gegevens. Het binnenkrijgen en afwerken van de gegevens kan nog veel tijd in beslag nemen.

## 1. INLEIDING

Na de publicatie in 1977 van de "United Kingdom Collaborative Study on Alpha-foetoprotein in relation to Neural Tube Defects" **(1)** werd de bepaling van alphafoetoproteïne (AFP) in maternaal serum op grote schaal overal in de wereld toegepast om zwangeren te screenen op neuraalbuisdefecten van de foetus. Binnen het RIV werd in 1977 begonnen om neuraalbuisdefecten in een vroeg stadium op te sporen door middel van een verhoogde AFP-waarde, voornamelijk voor de obstetrische klinieken van de academische ziekenhuizen in Groningen en Utrecht. De bevindingen van dit onderzoek werden samengevat in rapport 199101005 **(2)**.

In 1984 verscheen de eerste publicatie over het verband tussen lage maternale serum AFP-concentratie en chromosoomafwijkingen van de foetus **(3)**. Sinds die tijd werd wereldwijd veel onderzoek gedaan naar de mogelijkheid om via verschillende maternale serumcomponenten een risico te schatten op chromosoomafwijkingen.

Met het vorderen van de leeftijd van de zwangere neemt de incidentie van chromosoomafwijkingen toe **(4)**. In zwangerschappen met Down Syndroom blijkt de gemiddelde waarde van AFP en van uE<sub>3</sub> lager **(5,6)**, en van hCG hoger **(7)** te zijn dan die van de groep zwangeren met niet-aangedane foetus. Via de waarden van de 3 parameters in combinatie met het a priori leeftijdsrisico kan nu een risico op Down syndroom worden geschat **(8,9)**. Bij een verhoogd risico moet nader diagnostisch onderzoek aan de zwangere worden aangeboden.

Sinds 1988 werd door ons een lage AFP-waarde gebruikt als indicatie voor het aanwezig zijn van Down syndroom bij de foetus, en vanaf maart 1991 werd ook ongeconjugeerd oestriol (uE<sub>3</sub>) en humaan choriongonadotropine (hCG) bepaald. In 1990 verscheen een publicatie dat bij het aanwezig zijn van een foetus met trisomie 18 voor alle 3 parameters lage waarden kunnen worden gevonden **(10)**. Met de computerprogrammatuur voor de schatting van het risico op Down syndroom werd later ook een risico-schatting op trisomie 18 mogelijk. Daarom werden achteraf alsnog trisomie18-risico's berekend uitgaande van de oorspronkelijk gevonden waarden van AFP, uE<sub>3</sub> en hCG.

Aan dit onderzoek, beschreven onder project 199101, is ten doel gesteld de validatie van de zogenoemde 'tripletest' met AFP, uE<sub>3</sub> en hCG voor de risicobepaling op Down syndroom (en andere afwijkingen), bijbehorende kwaliteitscontrole, het tegengaan van wildgroei, onderzoek naar andere parameters, enz. In het hier volgende rapport wordt de voorlopige stand van zaken gegeven van de risico-schattingen uitgevoerd van maart 1991 t/m december 1996. De totale aantallen zwangeren, het soort inzenders, en de aantallen zwangeren met verhoogd risico worden weergegeven. Er wordt vermeld voor zover bekend hoeveel kinderen met NBD, Down syndroom of andere chromosoom-afwijkingen werden gevonden. De epidemiologische schattingen, -zoals detectie percentages-, worden wel berekend, maar kunnen slechts gezien worden als een momentopname, omdat naar verwachting nog veel post partum gegevens zullen worden ontvangen.

## 2. MATERIAAL EN METHODEN

### 2.1. Analyse

De analyses van AFP, resp. uE<sub>3</sub>, en hCG werden uitgevoerd dmv een radioimmunochemische methode (AmerlexM) in de handel gebracht door de firma Johnson. Voor alle 3 parameters berust het systeem op het principe van competitie van antigeen en gelabeld antigeen in hun reactie met de betreffende specifieke antistoffen. Controle sera werden door de firma geleverd en gedefinieerd, en vervolgens werden de opgegeven waarden door ons gecontroleerd. De kwaliteitscontrole en bijbehorende rondes over deze jaren zullen in het volgende rapport worden beschreven.

### 2.2. Zwangerschapsduur

In de loop van de zwangerschap nemen AFP en uE<sub>3</sub> toe, hCG neemt af. De zwangerschapsduur werd vastgesteld uitgaande van de laatste menstruatie, liefst met echo bevestigd. Indien hierover echter onduidelijkheid bestond werd de zwangerschapsduur die via echografie was vastgesteld gebruikt. De opgegeven zwangerschapsduur werd steeds gecontroleerd. Bij discrepantie tussen via Echo of LM vastgestelde zwangerschapsduur, of bij ander vermoeden van onjuiste zwangerschapsduur, werd navraag gedaan bij de inzender. Een betrouwbare berekening van het risico (zie onder) is direct afhankelijk van de al of niet betrouwbaar vastgestelde zwangerschapsduur. Vanaf 1993 werd een zwangerschapsduur in dagen gebruikt.

Met de combinatie van AFP, uE<sub>3</sub> en totaal hCG als parameters is vanaf 15.0 weken discriminatie mogelijk tussen aangedane en niet-aangedane zwangerschappen **(11,12)**. Daarnaast is een zwangerschapsduur van 16 à 18 weken het meest geschikt voor de serum AFP-bepaling ter opsporing van neuraalbuisdefecten **(1)**. Om die reden rekent het programma  $\alpha$ , ontwikkeld door Wald, Rish, c.s. **(13)** pas vanaf een zwangerschapsduur van 15 weken. Echter, hoe later in de zwangerschap hoe belastender medisch ingrijpen wordt. De meeste zwangerschapsbegeleiders vragen tegenwoordig dan ook een risico berekening aan bij een zwangerschapsduur van 15 tot 16 weken.

In het algemeen wordt voor een beoordeling van de gevonden concentraties uitgegaan van de mediane waarden bij een bepaalde zwangerschapsduur. De waarden worden uitgedrukt in de 'multiple of median' (MoM) behorende bij de betreffende zwangerschapsduur. De gevonden concentraties van AFP, uE<sub>3</sub> en hCG kunnen vervolgens omgerekend worden als "Multiple of Median" (MoM), de verhouding van de concentratie ten opzichte van de mediaan. Omdat de MoM niet afhankelijk is van de zwangerschapsduur, kunnen de gevonden MoM's bij verschillende zwangerschapsduur met elkaar vergeleken worden.

### 2.3. Risico-berekening

Via de MoM voor resp. AFP, uE<sub>3</sub> en hCG wordt in combinatie met de leeftijd, het risico op Down syndroom berekend met het algoritme in het computer programma ' $\alpha$ '. De laatste versie van dit programma signaleert ook een verhoogd trisomie 18 risico. De grenswaarde voor een al of niet verhoogd risico op Down syndroom ligt bij 1/250, voor trisomie 18 bij 1/200. Als vanouds is voor neuraalbuisdefecten de grens op 2.5 MoM gesteld. Het door  $\alpha$  berekende risico komt daarbij op 1/180 à 1/250, afhankelijk van de zwangerschapsduur.



Meerlingen krijgen een aparte risicoberekening in  $\alpha$ . Onze grens voor NBD ligt bij tweeling-zwangerschappen bij een AFP-waarde van 4.5 MoM. Het Down-risico wordt door  $\alpha$  als niet nauwkeurig te berekenen opgevat, en derhalve slechts als verhoogd of niet-verhoogd opgegeven.

#### **Eventuele correcties**

Tussen het **gewicht** van de zwangere en de AFP-waarde bestaat een negatieve correlatie **(14,15)**. In dit onderzoek werd de AFP-waarde steeds voor het gewicht, indien opgegeven, gecorrigeerd. Er werden eigen gegevens gebruikt om de gewichtscorrectie te kunnen uitvoeren. Verschillende andere correcties zijn mogelijk zoals voor roken en ras van de zwangere, voor insuline afhankelijke diabetes, gebruik van valproaat of carbamazepine bij epileptische zwangeren.

Op al deze mogelijke invloeden op de waarden van de 3 parameters wordt in dit rapport niet verder ingegaan. Deze worden in het volgende rapport besproken.

### 3. POST PARTUM GEGEVENS

De post-partum gegevens werden in de kliniek vastgesteld, door de gynaecoloog, de verloskundige of de kinderarts. Formulieren werden ook vaak aan de zwangere meegegeven, opdat zij deze na de partus zelf zou kunnen opsturen. Op dit moment (begin 1998) is ruim 60% van de gegevens ontvangen en verwerkt. Vanuit het AZU is wel uitgebreid navraag van gegevens gedaan met als resultaat meer dan 90% rapportage voor de zwangerschappen uit Utrecht. Aangenomen mag worden dat volgens afspraak de gevonden ernstige structurele afwijkingen zoals open defecten, en numerieke chromosoom-afwijkingen voor het merendeel direct door de betreffende inzenders werden gemeld.

Slechts een voorlopige schatting van de sensitiviteit en de specificiteit van de bepaling voor de opsporing van NBD en Down syndroom en voor sommige andere chromosoomafwijkingen kan worden uitgevoerd. Dit geldt ook voor de positief voorspellende waarde en de negatief voorspellende waarde voor deze afwijkingen.

Voor andere afwijkingen, bedreigde zwangerschappen, ziekten van de zwangere, enz, wordt in deze rapportage nog geen analyse uitgevoerd, omdat hierbij de nu nog ontbrekende post partum gegevens zeker van invloed zijn.

## 4. BESCHRIJVING POPULATIE

### 4.1. Inzenders

De inzenders van sera voor de triplettest werden in 5 categorieën verdeeld:

- 1) de vakgroep obstetrie van het Academisch ziekenhuis in Utrecht (AZU);
- 2) een aantal andere academische centra, nl de vakgroepen obstetrie van het AMC en de VU in Amsterdam, en de klinische genetische centra in Leiden, in Rotterdam en in Maastricht;
- 3) de obstetrische afdelingen van perifere ziekenhuizen;
- 4) verloskundigen in eigen praktijk;
- 5) huisartsen.

### 4.2. Zwangeren

Het aantal zwangerensera was in totaal 14365. Hiervan waren er 14092 afkomstig van eenlingzwangerschappen, 270 van tweeling- en 3 van drielingzwangerschappen. Na elimineren uit de populatie van te vroeg afgenomen sera en herhaalde serumafname in eenzelfde zwangerschap, werden de voor evaluatie bruikbare aantallen resp 14195, 13930, 262 en 3. In de verslagperiode van 1991 tot 1996 nam het jaarlijkse aantal zwangeren met een triplettest toe van 951 tot 3942 sera.

De sera en zwangeren kunnen verdeeld worden per **categorie** inzender (A) of per **regio** van de inzender (B).

#### A. Per categorie inzender en per jaar

De aantallen sera afkomstig van verschillende categorieën inzenders in een bepaald jaar zijn samengevat in tabel 1 (met te vroeg afgenomen sera, én herhalingen):

**Tabel 1**

	1991	1992	1993	1994	1995	1996	totaal <sup>1</sup>
AZU	827	1143	1315	1474	1387	1303	7449
academische centra	57	106	448	932	1095	905	3543
ziekenhuizen	66	64	169	375	842	1548	3064
verloskundigen	0	1	10	25	53	154	243
(huis)artsen	1	2	8	3	11	23	48
buitenl/onbekend					9	9	18
totaal	951	1316	1950	2809	3397	3942	14365

De meeste sera waren afkomstig van het AZU, nl 7449 in totaal. Dit aantal bereikte in 1994 een maximum. In het begin van de onderzoeksperiode was het AZU nagenoeg de enige inzender.

Uit de andere academische centra kwamen in totaal 3543 patiënten. Ook bij de academische centra nam in 1996 het aantal inzendingen af. Dit komt vooral door afname van sera uit Rotterdam. Oorspronkelijk werd daar in vruchtwater afgenomen op NBD-indicatie, geen chromosoomonderzoek uitgevoerd, tenzij de zwangere een verhoogd risico op Down Syndroom had via de triplettest. Tegenwoordig wordt wèl in alle vruchtwater-monsters

<sup>1</sup> 1997: resp: 946, 572, 1336, 195, 26, 3; in totaal 3078 sera

chromosoomonderzoek gedaan en is de triple test niet meer nodig als indicatie voor chromosoomonderzoek.

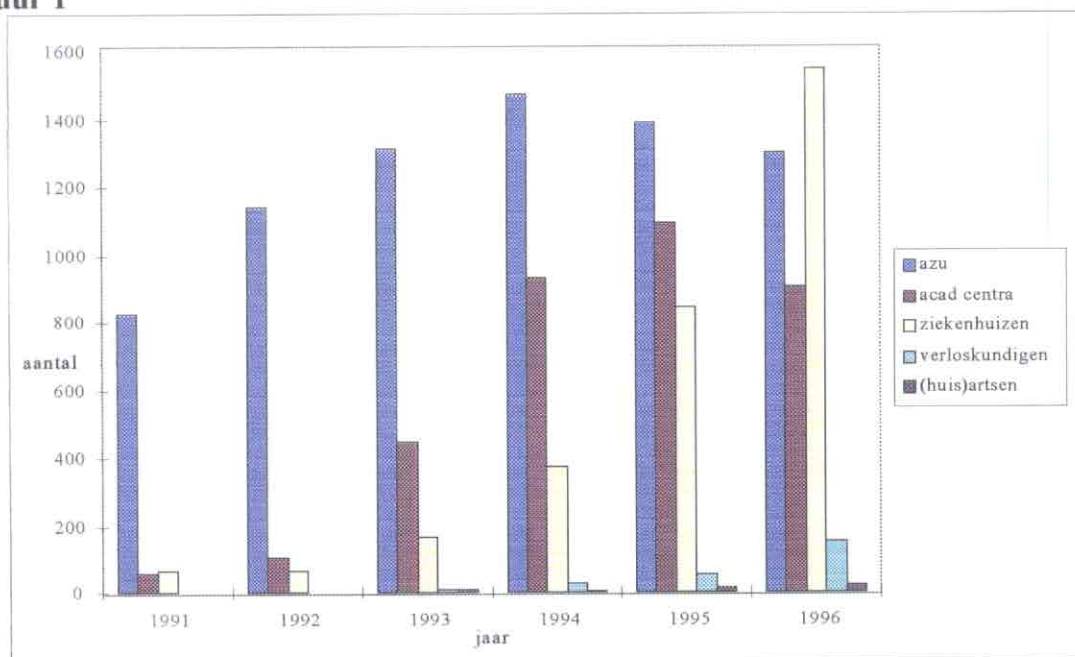
Daarnaast werden veel sera ingezonden door obstetrici in niet-academische ziekenhuizen. In tabel 2 werden de aantallen verzameld voor de academische centra en de perifere ziekenhuizen die meer dan 50 sera instuurden in de periode 1991-96.

**Tabel 2**

Academische centra		Perifere ziekenhuizen			
	n		n	n	
Leiden, genetica,	1152	Den Haag, Bronovo	324	Zaandam, deHeel	92
A'dam AMC, gynaecologie	954	Deventer, StDeventer Zkh	286	Wageningen, GelderseVallei	90
Rotterdam, genetica	637	Tilburg, Elisabeth Zkh	184	Woerden, Hofpoort	85
A'dam VU, gynaecologie	424	Blaricum, GooiNoord	183	Veghel, StJoseph Zkh	82
Maastricht, genetica	376	Harderwijk, StJansdal Zkh	157	Utrecht, DiaconessenH	71
		Tilburg, Maria Zkh	149	DenBosch, GrootZkGasth	68
		Haarlem, Spaarne Zkh	131	DenHaag, RodeKruis Zkh	65
		Zevenaar, Streek Zkh	125	Brunssum, Gregorius Zkh	59
	3543				2151

De getallen zijn in figuur 1 grafisch weergegeven.

**Figuur 1**



Over de hele periode 1991 t/m 1996 wordt de toename van het totaal aantal sera dus vooral veroorzaakt door de inzendingen van de perifere ziekenhuizen. Verloskundigen leveren pas vanaf 1996 een relatief groter aandeel.

Het totaal aantal verschillende ziekenhuizen is 77 met gemiddeld 40 zwangeren; het totaal aantal verschillende verloskundigen is 76, hun gemiddeld aantal zwangeren is 3. Huisartsen zonden sporadisch in, het zijn er 35 met in totaal 48 zwangeren, gemiddeld ruim 1 zwangere per arts.

### B. Aantallen zwangeren per regio en per jaar

Om een beeld te krijgen van de verspreiding van het gebruik van de triplettest in Nederland kunnen de aantallen sera door de verschillende inzenders ingezonden, ook onderverdeeld worden naar plaats van de inzender.

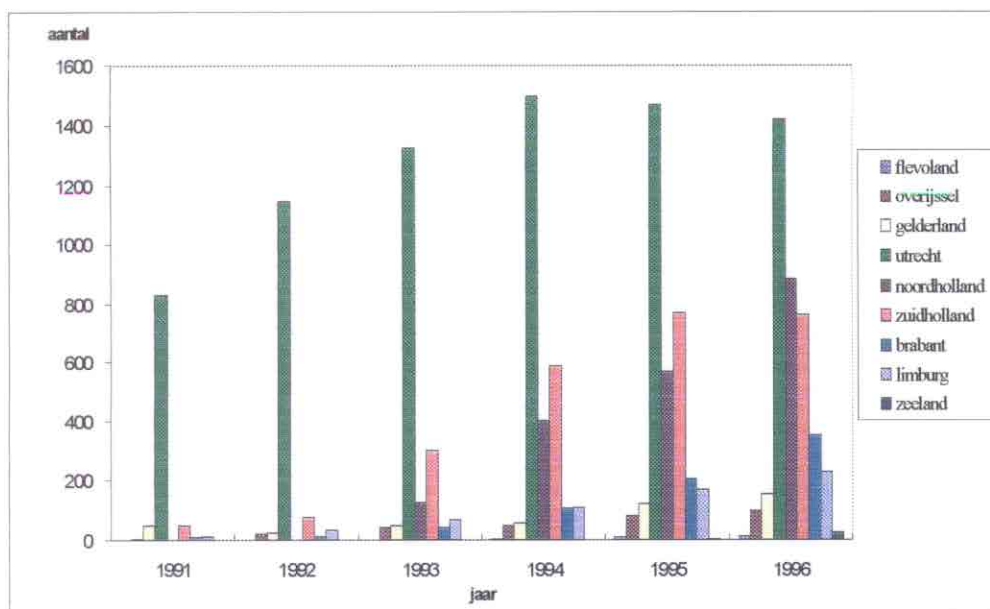
De aantallen sera per provincie in de jaren 1991 t/m 1996 zijn in tabel 3 gegeven. Criterium is hierbij dus de plaats van het ziekenhuis of de inzender.

**Tabel 3**

provincie	aantal						totaal
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	
Flevoland	0	0	1	3	9	14	27
Overijssel	5	21	41	48	81	98	294
Gelderland	48	26	48	58	120	154	454
Utrecht	829	1144	1322	1494	1466	1421	7676
Noordholland	1	2	126	402	568	881	1980
Zuidholland	48	77	302	590	768	760	2545
Zeeland	1	1	1	1	5	24	33
Noordbrabant	8	14	42	103	204	354	725
Limburg	11	31	67	110	167	227	613
buiten/onbekend	0	0	0	0	9	9	18
	951	1316	1950	2809	3397	3942	14365

Vanuit de provincies Groningen, Friesland en Drenthe werden geen sera ingezonden. In het algemeen namen de aantallen zwangeren met een risico-bepaling t/m eind '96 in alle provincies toe. Door de decentralisatie in het AZU in Utrecht en het veranderde beleid in Rotterdam was er geen toename in aantal sera tussen 1995 en 1996 voor de provincies Utrecht en ZuidHolland. In figuur 2 is voor 1991 t/m 1996 deze zelfde verdeling van de aantallen over de provincies grafisch weergegeven.

**Figuur 2**



Opvallend is dat in de provincie Utrecht in deze jaren weinig verloskundigen en huisartsen aanvragen voor de triplettest hebben gedaan. Nagenoeg alle zwangeren uit deze provincie

kwamen tot dan toe via het AZU. Het AZU voert nu een decentraliserend beleid, d.w.z. heeft verloskundigen en huisartsen verzocht zelf de sera van de zwangeren in te zenden.

Vooraf in Brabant, Limburg en Zuid-Holland zijn veel sera van verloskundigen afkomstig. In Zuid-Holland en Noord-Holland is er daarnaast een klein aantal verloskundigen met relatief veel zwangeren.

#### 4.3. Trend

Sinds 1996 neemt het aantal verschillende inzenders sterk toe; het aantal zwangeren echter niet. Dit is een gevolg van het invoeren van de nieuwe wet bevolkingsonderzoek (WBO), die onduidelijkheden en onzekerheden omtrent het prenatale beleid heeft opgeroepen.

Het eerste half jaar van 1997 geeft de volgende trend: een verdere afname van het aantal patiënten van het AZU, de inzendingen vanuit genetica in Rotterdam zijn nagenoeg stopgezet, vanuit genetica in Leiden en Maastricht komt ongeveer de helft van het in het verleden gebruikelijke aantal, de aantallen sera van de afdelingen obstetrie van het AMC en de VU blijven ongeveer hetzelfde. Ook de centra in Leiden en Maastricht hebben de risicoschatting gedecentraliseerd.

De toename komt dus vooral uit de periferie, nl van de huisartsen en vooral van de verloskundigen. In 1997 waren er 65 nieuwe inzenders, nl 8 ziekenhuizen, 40 verloskundigen en 16 huisartsen, met in totaal slechts 110 patiënten. Vanuit de ziekenhuizen zijn het vooral de gynaecologen die sera inzonden. Tabel 4 geeft de trend vanaf begin 1996 t/m eind 1997 nadat de WBO op 13 september 1996 van kracht werd.

**Tabel 4**

	1996 helft 1		1996 helft 2		1997 helft 1		1997 helft 2	
	n	%	n	%	n	%	n	%
AZU	684	33.5	609	32.6	493	30.7	453	30.8
Academ Centra	491	24.0	414	21.8	317	19.8	255	17.3
Ziekenhuizen	791	38.7	788	40.4	698	43.5	638	43.3
Verloskundigen	61	3.0	82	4.3	85	5.3	110	7.5
Huisartsen	9	0.4	14	0.7	11	0.7	15	1.0
Buitenl/Onbekend	7	0.3	2	0.1	1	0.1	2	0.1
	2043	100	1909	100	1605	100	1473	100

#### 4.4. Leeftijdsverdeling

De gemiddelde leeftijd van de zwangeren in Nederland is in de laatste 15 à 20 jaar toegenomen. In ons vorige onderzoek naar de mogelijke opsporing van neuraalbuisdefecten (2) bleek dat de ziekenhuispopulatie een hogere gemiddelde leeftijd had. Ook in het huidige onderzoek is de leeftijdsverdeling anders dan die van de totale populatie zwangeren in Nederland.

Vergeleken werd de leeftijdsverdeling door het CBS opgegeven (16), die van het derde maands onderzoek op lues en hepatitis waarvan gedetailleerde gegevens bekend zijn, en van ons eigen NBD/ Down onderzoek:

**Tabel 5**

gemiddelde leeftijd zwangeren à terme	1991	1994	1996
bron: CBS, levend geboorten	29.4	30.0	30.2
derde maands onderzoek lues/hepatitis	29.5	30.2	30.6
dit onderzoek	30.2	32.7	34.0

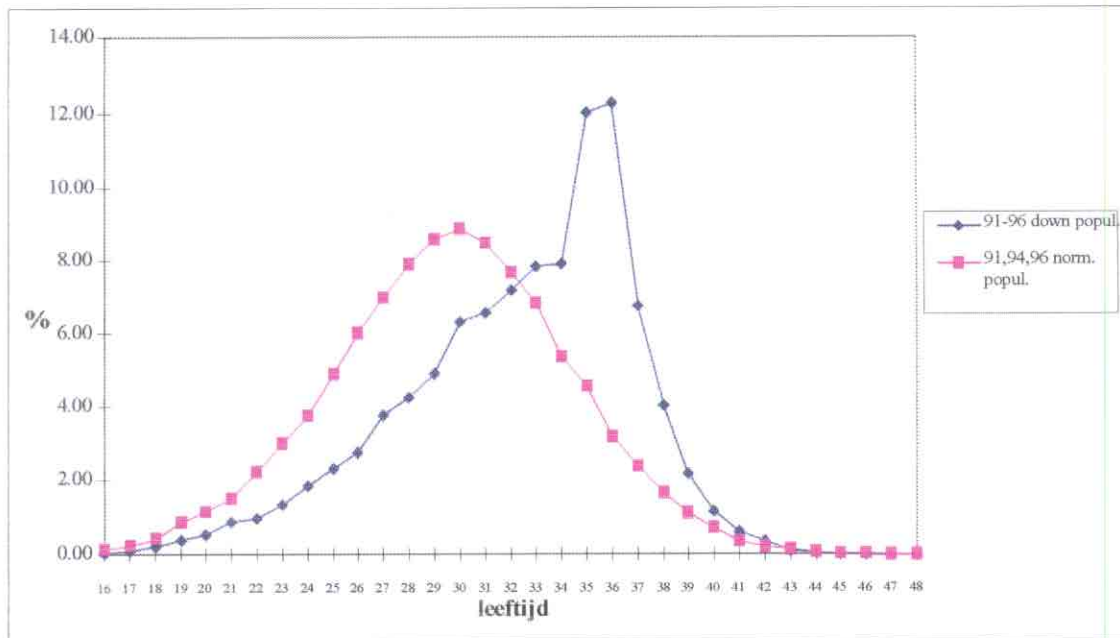
Het CBS (16) geeft de leeftijd van de vrouw bij het levend geboren kind; voor de andere twee groepen zwangeren was de leeftijd bij ongeveer 4 maanden zwangerschapsduur bekend, waarna de leeftijd werd omgerekend naar de à terme datum. Van der Veen (17) schat de gemiddelde leeftijd over de periode 1994-1999 op 30.2, in 1994 voor 15 West-Europese landen gemiddeld 28.8.

Opvallend is dat van de zwangeren die van '91 tot '96 een serum bepaling lieten uitvoeren, de leeftijd zeer sterk is toegenomen; ook in vergelijking met de totale populatie zwangeren in een zelfde jaar. Oorzaak hiervan is de groep vrouwen omstreeks de 34-37 jaar die hun risico op Down syndroom laten schatten. Jongeren komen in dit onderzoek relatief veel minder voor dan in de totale populatie zwangeren. De serum risico-schatting wordt ook heel vaak niet aan jongere zwangeren aangeboden.

In figuur 3 is weergegeven de leeftijdsverdeling van de zwangeren in dit onderzoek, en van de zwangeren die in de regio Utrecht deelnamen aan het landelijk screeningsprogramma van syphilis en hepatitis B. Dit programma wordt doorgaans in de derde maand van de zwangerschap uitgevoerd. De gegevens van het derde maandsonderzoek zijn gebruikt omdat we daar de verdeling tijdens de zwangerschap van kennen, evenals die voor Down/NBD onderzoek. Van het derde maandsonderzoek werden de jaargangen 1991, 1994, en 1996 bij elkaar genomen, en vergeleken met de jaren 1991 t/m 1996 van het NBD/Down onderzoek. De verdeling van de leeftijd van de zwangeren is gegeven in percenten van het totaal aantal zwangeren dat de risico-bepaling op Down Syndroom, of de hepatitis bepaling liet uitvoeren.

In figuur 3 is voor elk van deze 2 categorieën de leeftijdsverdeling weergegeven.

**Figuur 3**



Het percentage zwangeren dat een risico-bepaling liet uitvoeren is dus in de leeftijdsgroep van 34 tot en met 37 jaar het hoogst.



## 5. RESULTATEN

### 5.1. Verdeling van de MoM voor de 3 parameters in de totale populatie

Over de hele periode 1991 t/m 1996 zijn de gevonden waarden van de percentielen voor AFP, en hCG uitgedrukt in MoM als in tabel 7a. Voor een mediaan met MoM = 1.00 zijn ze omgerekend als in tabel 7b.

**Tabel 6**

perc	1	3	5	10	Med	90	95	97	99
AFP	0.43	0.53	0.58	0.66	1.04	1.66	1.90	2.12	2.74
uE3	0.42	0.53	0.58	0.66	0.98	1.40	1.56	1.66	1.92
hCG	0.23	0.33	0.39	0.49	1.05	2.17	2.68	3.10	4.10

Analyse van de MoM's bij de verschillende percentielen leert dat de verdeling van de getallen log-normaal is voor alle 3 parameters. In rapport 199101005 (2) was voor de verdeling van AFP-waarden een uitgebreide analyse uitgevoerd. Op een verdere analyse van de verdeling van de waarden van AFP, uE3 en hCG over de hier besproken periode wordt pas later ingegaan. Ook de aantallen per zwangerschapsduur, de gevonden medianen, het effect van een nauwkeurig vaststellen van de zwangerschapsduur, zullen in een volgend rapport worden besproken.

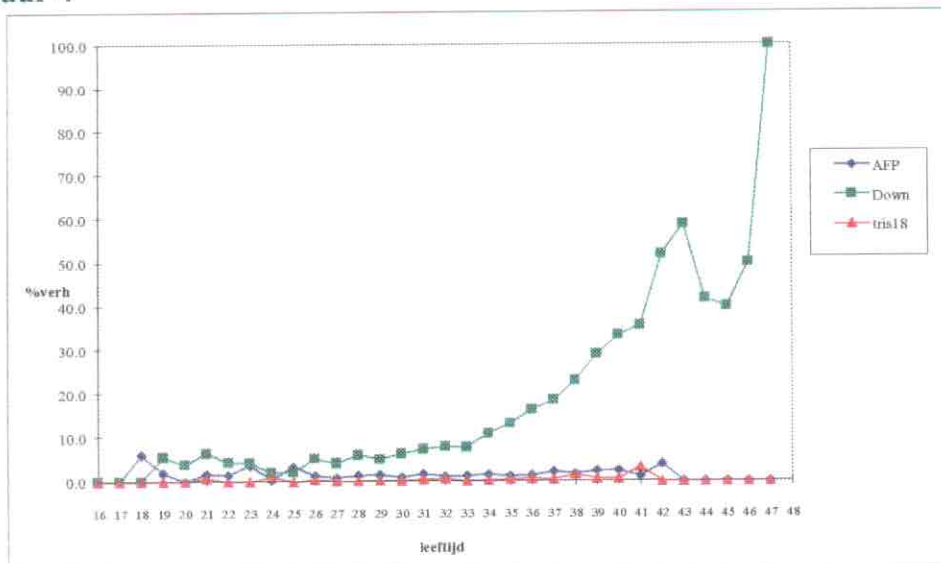
Bij de eenlingzwangerschappen met Down syndroom zijn de gemiddelde AFP-, uE<sub>3</sub>- en hCG-waardem respectievelijk 0.75, 0.66 en 2.70. E<sub>3</sub> heeft dus zeker discriminerende mogelijkheden, dit in tegenstelling tot publicaties waarin de waarde van E<sub>3</sub> in twijfel wordt getrokken (18).

### 5.2. Verhoogd risico

Het oorspronkelijke doel van het onderzoek was de opsporing van neuraalbuisdefecten en de risico-bepaling op Down Syndroom. In de door ons onderzochte populatie zwangeren had 11.3% (1604 van de 14195) van de zwangeren een verhoogd risico voor Down syndroom, en 1.5% een verhoogd risico voor neuraalbuisdefecten. Achteraf werd bovendien uit de oorspronkelijk gevonden waarden van de 3 parameters ook een risico voor trisomie 18 berekend, hetgeen resulteerde in 0.5% van de zwangeren met een verhoogd risico in de hele populatie. Het risico op trisomie 18 is evenals het risico op Down syndroom leeftijdsafhankelijk.

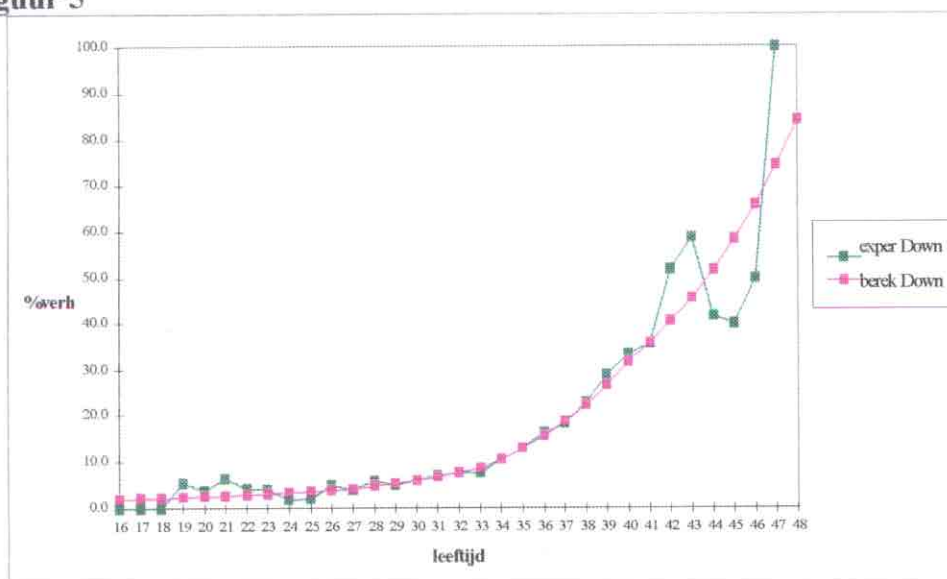
Het percentage zwangeren met een verhoogd risico op Down syndroom (11.3%) is hoog vergeleken met wat men uit literatuurgegevens mag verwachten. Dat zou ca 5% zijn indien alle zwangeren van alle leeftijdscategorieën een risico-bepaling laten uitvoeren (9,19,20). Gezien de afwijkende leeftijds-verdeling in onze populatie werd het percentage zwangeren met een verhoogd risico op NBD, op Down Syndroom en op trisomie 18 in figuur 4 uitgezet tegen de leeftijd van de zwangere.

**Figuur 4**



Er is een verband tussen het percentage zwangeren met een verhoogd risico en de leeftijd van de zwangeren. In de leeftijdscategorieën met weinig waarnemingen kan dit verband niet nauwkeurig worden aangetoond. In figuur 4 is het nadelige effect zichtbaar van dit kleine aantal zwangeren per leeftijd. Vooral bij oudere en jongere leeftijd moet de lijn die de percentages verhoogden aangeeft worden geschat; nl bij de groepen van 20-26 jaar, en bij die van 41-50 jaar. Voor de omrekening naar de percentages verhoogden voor de hele zwangerenpopulatie werd een vloeiende lijn berekend (figuur 5).

**Figuur 5**



Deze gegevens kunnen gebruikt worden om een indruk te krijgen van het aantal zwangeren met een verhoogd risico in de normale populatie zwangeren. Het uiteindelijke percentage kan men afleiden uit de percentages zwangeren met verhoogd gevonden risico voor iedere

leeftijd in combinatie met de leeftijdsverdeling van de totale populatie zwangeren. Het percentage verhoogd gevonden risico's per leeftijd wordt vermenigvuldigd met het percentage zwangeren van die leeftijd in de "normale" populatie, waarvoor gebruik werd gemaakt van de leeftijdsverdeling van de zwangeren die in 1991, 1994, 1996 deelnamen aan het derde maandsonderzoek.. De totaalsom hiervan is het percentage zwangeren met een verhoogd risico op Down Syndroom in de "normale" populatie.

Het resultaat van deze berekeningen is in tabel 7a gegeven: het percentage zwangeren met verhoogd risico op Down syndroom, in dit onderzoek 11.3% in totaal, is voor  $\leq 35$  jaar en  $\geq 36$  jaar resp 7.7% en 20.7%. Voor de "normale" populatie omgerekend, zouden deze percentages resp : 7.9%, 6.3% en 22.7% zijn.

**Tabel 7a**

		Dit onderzoek % verhoogd		Extrapolatie % verhoogd	
Totaal		11.3		7.9	
$\leq 35$ jr	16-30	7.7	4.8	6.3	4.6
	31-35		9.8		9.1
$\geq 36$ jr		20.7		22.7	

Splitst men de jongere zwangeren nog op in een groep van 16-30 jaar en een van 31-35 jaar dan wordt voor deze groepen het percentage verhoogde risico's resp 4.6 % en 9.0 %.

Het grote verschil tussen de gevonden en de verwachte percentages met verhoogd risico komt dus vooral door het verschil in leeftijdsverdeling tussen de beide populaties, een gevolg van een veel grotere groep oudere zwangeren en van de oververtegenwoordiging van 34-35-jarigen in de groep jongeren van  $\leq 35$  jaar.

In tabel 7b staat het totaal in dit onderzoek bekende aantal casus met Down Syndroom (n=35) en het percentage dat met behulp van de risico-schatting was herkend

**Tabel 7b**

		Down Syndroom totaal aantal		Dit onderzoek % detectie	
Totaal		35		7.9	
$\leq 35$ jr	16-30		3		4.6
	31-35	15	12	6.3	9.1
$\geq 36$ jr		20		22.7	

### 5.3. Afwijkingen en verhoogd risico op NBD, Down syndroom of trisomie18.

Oorzaken van verhoogde risico's kunnen zijn **een groot aantal afwijkingen** van diverse aard. Besproken worden hier alleen de voorlopig gerapporteerde (numerieke) chromosoomafwijkingen en de open (neuraalbus-)defecten. Bij een rapportage van ruim 62 % van de voltooide zwangerschappen zijn er de volgende afwijkingen gevonden:

#### 5.3.1. Down Syndroom, trisomie 21

Van de 31 gerapporteerde Down syndroom casus, werd bij 25 zwangeren een verhoogd risico op een kind met Down syndroom gevonden. Opvallend is dat in één geval zonder verhoogd risico op Down syndroom achteraf alsnog een verhoogd risico op trisomie 18 werd

gevonden Er zou dus nog een kind met Down syndroom extra ontdekt zijn, wanneer het indertijd ook mogelijk was geweest het risico op trisomie 18 te schatten.

**Tabel 8**

totale populatie		Down S	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	0	206	206	1.5
	Down risico	25	1575	1604	11.3
	Tris18 risico	1	69	70	0.5
-	-	5	12310	12315	86.8
	totaal	31	14160	14195	100

Opvallend is de hoge incidentie van Down Syndroom in dit onderzoek, minimaal 35/14195, terwijl nog niet alles is gerapporteerd. Bij de totale populatie zwangeren zou men een incidentie van ca 1/700, 0.143% vinden (**21**). De hoge incidentie is zeker een gevolg van de hoge gemiddelde leeftijd van de zwangeren.

Vervolgens werden deze gegevens uitgesplitst voor de leeftijden  $\leq 35$  jaar en  $\geq 36$  jaar. Deze leeftijdsgrens werd gekozen, omdat de zwangere vanaf 36 jaar in aanmerking komt voor een vruchtwaterpunctie.

**Tabel 9a en 9b**

$\leq 35$ jaar		Down S	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	0	138	138	1.3
	Down risico	12	777	789	7.7
	Tris18 risico	1	37	38	0.4
-	-	2	9295	9297	90.7
	totaal	15	10247	10262	100

$\geq 36$ jaar		Down S	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	0	68	68	1.7
	Down risico	17	798	815	20.7
	Tris18 risico	0	32	32	0.8
-	-	3	3015	3018	76.7
	totaal	20	3913	3933	100

Bij de jongere zwangeren komen dus 15 casus met Down syndroom voor, waarvan er 2 niet werden herkend, bij de ouderen 20 casus waarvan er 3 niet herkend zijn. De incidentie is resp. minimaal 0.146% (15/10262) en 0.509% (20/3933). Ook binnen de groep  $\leq 35$  jarigen is zowel het detectie percentage als de incidentie hoog, een gevolg van de relatief hoge gemiddelde leeftijd van de zwangeren, nl veel 34-jarigen en zeer veel 35-jarigen.

Men zou 2/3 van de Down syndroom kinderen verwachten bij moeders van 35 jaar en jonger. Bij 14200 zwangeren, 5% vrouwen ouder dan 35 jaar, en een overall incidentie van 0.143% verwacht men 13 Down casus bij 13490 jongeren (0.096), en 6 bij 710 ouderen (0.85%).

### 5.3.2. Andere chromosomale afwijkingen

Onder het begrip chromosoomafwijkingen worden hier in het algemeen numerieke chromosoomafwijkingen onder verstaan; nl andere trisomieën (46+1), en triploidie (69), Turner (45, X0) en Klinefelter syndroom (47,XXY).

**Tabel 10**

totale populatie		Chrom *	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	3	203	206	1.5
	Down risico	14	1590	1604	11.3
	Tris18 risico	7	63	70	0.5
-	-	4	12311	12315	86.8
totaal		28	14167	14195	100

\*: andere chromosoomafwijkingen dan Down syndroom

De incidentie is minimaal 28/14195, 0.197%, het is te verwachten dat deze uiteindelijk na verdere rapportage nog hoger zal worden.

Een aantal chromosoomafwijkingen kan open defecten “veroorzaken”, zodat bv AFP verhoogd wordt gevonden. Bij deze afwijkingen kunnen verschillende combinaties van waarden voor de 3 parameters voorkomen, E<sub>3</sub> laag met een hoge of lage AFP-waarde, en een hoge of lage hCG-waarde. Het is daardoor mogelijk dat het risico verhoogd is ofwel op NBD via een AFP-waarde van  $\geq 2.5$  MoM, ofwel op Down syndroom of trisomie 18 via de combinatie van de 3 parameters. Ook bij **triploidie** worden zeer hoge, maar daarnaast ook lage AFP-waarden gevonden. Zowel het risico op NBD, op Down syndroom of op trisomie 18 kan daardoor verhoogd zijn.

Deze zelfde gegevens werden weer uitgesplitst naar leeftijd:

**Tabel 10a en 10b**

≤ 35 jaar		Chrom *	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	2	136	138	1.3
	Down risico	8	781	789	7.7
	Tris18 risico	4	34	38	0.4
-	-	3	9294	9297	90.6
totaal		17	10245	10262	100

≥ 36 jaar		Chrom *	-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	1	67	68	1.7
	Down risico	6	809	815	20.7
	Tris18 risico	3	29	32	0.8
-	-	1	3017	3018	76.7
totaal		11	3922	3933	100

Bij de zwangeren jonger dan 35 jaar hadden van de tot nu toe gerapporteerde 17 casus met een aangedaan kind er slechts 3 geen verhoogd risico. Bij de oudere zwangeren was slechts in één van de zwangerschappen met een kind met chromosoomafwijking niet een van de risico's (op NBD, Down syndroom of trisomie 18) verhoogd.

Er zullen waarschijnlijk nog meer chromosoomafwijkingen worden gerapporteerd. Op dit moment is de incidentie resp minimaal 0.166% en 0.280%.

Worden de casus met Down syndroom en andere chromosoomafwijkingen met elkaar gecombineerd dan hadden hiervan 27 van de 32 (84.4%) zwangeren van  $\leq 35$  jaar, en 27 van de 31 (87.1%) zwangeren van  $\geq 36$  jaar een verhoogd risico (tabel 9a,b+10a,b).

### 5.3.3. Neuraalbuisdefecten en andere open defecten

De open neuraalbuisdefecten hebben bijna alle een verhoogde AFP-waarde: in dit onderzoek komen 3 anencefalen met een hoge AFP-waarde voor, en 7 casus met open spina bifida, waarvan er 6 een verhoogde AFP-waarde hadden. De zwangere waarbij de open spina bifida niet werd ontdekt gebruikte valproaat (22).

**Tabel 11**

totale populatie		NBD		-	totaal	%
verhoogd	NBD risico	9	197		206	1.5
	Down risico	0	1604		1604	11.3
	Tris18 risico	0	70		70	0.5
-	-	1*	12314		12315	86.8
	totaal	9(10*)	14185		14195	100

\*: zwangere gebruikte valproaat wegens epilepsie

Tot op moment van rapporteren is de incidentie 0.063% (\*0.070%). Deze is erg laag, vergeleken met die in de periode 1977-1990 (2), maar ook vergeleken met de voor Nederland tot nu toe gevonden/gebruikte incidentie van 0.14% (~ 1/700) voor open neuraalbuisdefecten (23).

Bij de casus met open spina bifida bij een zwangere met epilepsie die valproaat gebruikte, is het neuraalbuisdefect is waarschijnlijk door het gebruik van valproaat geïnduceerd (24). De zo geïnduceerde defecten hebben vaak een andere structuur dan de andere open neuraalbuisdefecten, waardoor deze geen verhoogde AFP-waarde geven (25).

Andere open defecten geven ook vaak hoge serum AFP-waarden, bij voorbeeld de buikwanddefecten. Bij gastroschisis en omphalocèle kunnen vaak zéér hoge waarden worden gevonden. Het ene buikwanddefect en de 2 omfalocèles, alle drie toevallig geassocieerd met andere ernstige problemen, gaven echter geen verhoogde AFP-waarde.

In tabel 12 zijn de tot op dit moment gevonden en gerapporteerde afwijkingen verzameld; nl a) Down Syndroom. b) Numerieke chromosoom afwijkingen (aantal chromosomen), en andere afwijkingen, zoals chromosoomvarianten en translocaties. Daarnaast wordt ook vermeld het syndroom van Noonan en hygroma colli. c) Neuraalbuisdefecten. Aangegeven wordt het aantal casus met verhoogd resp op NBD, Down Syndroom of trisomie 18, ofwel "negatief", dus niet verhoogd.

**Tabel 12**

		verhoogd risico op			-	det-perc
		NBD	Down	tris18	neg	
Down syndroom	35		29	1	5	85.7
trisomie13	3		2	1		100
trisomie13 moz	2		1		1	50
trisomie18	5	1		4		100
trisomie20 moz	1	1				100
triploidie	2			2		100
Klinefelter	2		2			100
Turner	2		1		1	50
Noonan	1		1			100
andere chrom afw/var	10	1	7		2	80
NBD	10	9			1*	100(90*)
totaal	73	12	43	8	10*	87.5(86.3*)

Van de 73 verschillende afwijkingen zouden er dus 63 (86.3%) via de bepaling van de biochemische parameters zijn ontdekt. Dit is een niet gering aantal. Hierbij is ook de casus met NBD, die naar mag worden aangenomen door valproaat werd geïnduceerd, meegerekend.

Het Syndroom van Noonan is in deze lijst van afwijkingen meegenomen, omdat ook in de literatuur hiervoor een hoog risico werd gemeld (26). Op de verschillende chromosoomafwijkingen wordt verder niet in detail ingegaan. Een uitgebreidere beschrijving heeft pas zin als de post partum rapportage zo volledig mogelijk is.

#### 5.4. Sensitiviteit en specificiteit bij Down syndroom en chromosoomafwijkingen

De **sensitiviteit** ( ~ detectie-percentag) van de serum bepaling is de verhouding van het aantal afwijkingen gevonden met een verhoogd risico t.o.v. van het totaal aantal afwijkingen, dus het percentage aangedane kinderen dat via de tripletest van de zwangere wordt gevonden. De **specificiteit** van de test is het aantal zwangeren met niet-afwijkende kinderen waarbij het risico niet verhoogd werd gevonden t.o.v. het totale aantal zwangeren met niet-afwijkende kinderen. De **positief voorspellende waarde** van een test is de verhouding van de zwangeren met een verhoogd risico met een afwijking t.o.v. het totaal aantal zwangeren met een verhoogd risico, d.w.z. dat gedeelte van de zwangeren met verhoogd risico waarbij ook inderdaad een ernstige defect wordt gevonden. Op analoge wijze is de **negatief voorspellende waarde** de verhouding van de aantallen zwangeren met niet-aangedane kinderen zonder verhoogd risico (negatieven) t.o.v. het totaal aantal negatieven.

Zo is dit bij een schematische weergave als volgt:

	afwijking	geen afwijking
verhoogd risico	a	b
niet-verh risico	c	d

De sensitiviteit is dan  $a/a+c$ , de specificiteit is  $d/b+d$ , de positief-voorspellende waarde  $a/a+b$ , en de negatief-voorspellende waarde is  $d/c+d$ .

Voor de detectie van Down syndroom met behulp van alleen een verhoogd risico op Down syndroom, van trisomie 18 met alleen een verhoogd risico op trisomie 18, en voor de andere chromosoomafwijkingen met alle 3 de risico-schattingen zijn de epidemiologische parameters samengevat in tabel 13.

Het bovenste gedeelte van de tabel betreft het opsporen van Down Syndroom via een al of niet verhoogd risico op Down Syndroom (links), of op Down Syndroom en trisomie 18 samen (rechts). Het onderste gedeelte geeft de detectie van de andere chromosoomafwijkingen via alleen trisomie 18 (links), of via een al of niet verhoogd risico op NBD en Down Syndroom en trisomie 18 samen (rechts).

**Tabel 13**

Down syndroom casus met verhoogd risico op Down syndroom				Down syndroom met verhoogd risico op Down syndroom of trisomie 18			
	totaal	≤35 jr	≥36 jr	totaal	≤35 jr	≥36 jr	
sensitiviteit	82.9	80.0	85.0	85.7	86.7	85.0	
specificiteit	88.9	92.4	79.6	88.4	92.1	78.8	
pos voersp wrd	1.81	1.52	2.09	1.79	1.57	2.01	
neg voersp wrd	99.95	99.97	99.90	99.95	99.98	99.90	
<b>chromosoomafwijkingen met verhoogd risico op trisomie 18</b>				<b>chromosoomafwijkingen met verhoogd risico op NBD, Down S of trisomie 18</b>			
	totaal	≤35 jr	≥36 jr	totaal	≤35 jr	≥36 jr	
sensitiviteit	25.0	23.5	27.3	85.7	82.4	90.9	
specificiteit	99.6	99.7	99.3	86.9	90.7	76.9	
pos voersp wrd	10.00	10.53	9.38	1.28	1.45	1.09	
neg voersp wrd	99.85	99.87	99.79	99.97	99.97	99.97	

In dit onderzoek hebben wij een zeer hoog detectiepercentage, dat niet alleen te verklaren is uit de leeftijdsverdeling. Vanwege de nog onvolledig post partum rapportage moet tabel 13 zeker niet als definitief worden opgevat, en kan geflatteerd zijn. Voor de chromosoomafwijkingen zijn alle 3 risico-schattingen van belang (links onder).

Een verhoogd risico op trisomie 18 heeft een hoge voorspellende waarde (**27**), hier bij de huidige stand van rapporteren al 10% voor alleen de chromosoomafwijkingen. Ook de specificiteit is zeer hoog, het percentage zwangeren met een verhoogd risico is zeer klein, nl 0.5%!

In tabel 14a zijn alle bovengenoemde afwijkingen en de 3 risico-berekingen gecombineerd, en in tabel 14b zijn de eruit volgende statistische parameters gegeven.

**Tabel 14a en b**

		afwijkingen		geen afwijkingen		tot
	verhoogd	63	12 43 8	194 1561 62	1817	1880
	niet-verh.	10		12305		12315
	totaal	73		14122		14195

		%*	%
sensitiviteit	63/73	86.3	87.5
specificiteit	12305/14122	87.1	87.1
pos voersp wrd :	63/1880	3.35	3.35
neg voersp wrd:	12305/12315	99.92	99.93

De voorlopige resultaten voor alle afwijkingen tesamen geven dus een sensitiviteit van 86.3%, en een specificiteit van 87.1%, de positief voorspellende waarde is 3.35%, en de negatief voorspellende waarde is 99.92%.

\* Indien de niet-ontdekte open spina bifida, een gevolg van het gebruik van valproaat, niet wordt meegerekend wordt het detectiepercentage hoger, nl 87.5%.



## 6. DISCUSSIE

### 6.1. Aantallen

Nadat aanvankelijk alleen de vakgroep Obstetrie van het Academisch Ziekenhuis Utrecht sera instuurde, zijn langzamerhand ook andere academische centra gaan deelnemen. De aantallen te bepalen sera namen daardoor toe, maar er heeft ook een verschuiving plaats gevonden naar soort inzender. In de loop der jaren is nl ook in perifere ziekenhuizen en bij verloskundigen en huisartsen de mogelijkheid van een risico-bepaling bekend geworden.

Een nieuwe ontwikkeling is daarnaast dat per september 1996 de wet bevolkingsonderzoek (WBO) is ingegaan. Deze wet stelt aanbieden van de screening vergunningplichtig. Vanwege de WBO wordt de serumtest door de beroepsgroep van gynaecologen en klinisch genetici niet meer actief aan de zwangeren aangeboden, maar nog slechts uitgevoerd indien de zwangere er expliciet om vraagt. Een gevolg hiervan is een afname van het aantal inzendingen.

Het is daarnaast mogelijk dat de risico-schatting wetenschappelijk minder interessant is geworden, gezien het grote aantal publicaties dat tot nu toe is verschenen. Zeer recent heeft Wald c.s. een uitgebreide samenvatting ervan gegeven (28).

Op het einde van de besproken periode ontstond zodoende een afwachtend en decentraliserend beleid van een paar academische centra. Het gevolg van deze decentralisatie is een kleiner aantal patiënten bij meer verschillende inzenders. Nadeel van deze ontwikkeling is echter dat het vaak aan informatie en ervaring bij de aanvrager ontbreekt, omdat sommigen slechts sporadisch inzenden. De ontwikkeling die het afgelopen jaar te zien geeft is daarom niet bepaald gunstig, niet alleen met betrekking tot een adequate voorlichting aan de zwangere, maar ook omdat de kwaliteitscontrole van het programma als totaal door deze spreiding veel moeilijker is dan wanneer de test in een klein aantal grotere centra wordt aangeboden.

### 6.2. Verhoogd risico afhankelijk van de leeftijd

Om goed beleid te voeren (voorlichting, kosten-baten, counseling) moet men het percentage verhoogden in een normale populatie en het detectiepercentage kennen. Het percentage zwangeren met een verhoogd risico dat wij vinden is echter veel hoger dan men zou verwachten. In vroege publicaties werd steeds van 5% uitgegaan bij een gekozen risicogrens van 1/250 (9). Oorspronkelijk was ook 5% van het aantal zwangeren  $\geq 36$  jaar. Hierbij zou het detectie percentage ca 60% zijn.

Nu langzamerhand de gemiddelde leeftijd van de zwangeren in een aantal West-Europese landen toeneemt, zal het percentage zwangeren met een verhoogd risico op Down syndroom ook hoger worden. Ook in Nederland is de gemiddelde leeftijd van de zwangeren de laatste 15 jaar sterk toegenomen, en is een van de hoogste vergeleken met andere landen in West - Europa (17). Een gevolg hiervan is dat een groter aantal zwangeren dan b.v. in de UK of USA (19,29,30) een verhoogd risico op Down syndroom zal hebben.

In ons onderzoek blijkt bovendien dat de zwangeren die een serumtest/risico-bepaling laten uitvoeren vooral tot de leeftijdsgroep van 34-37-jarigen behoren. Reden van het grote aantal zwangeren van die leeftijd is waarschijnlijk:

a) Vrouwen van 34-35 jaar komen nog net niet voor prenatale diagnostiek in aanmerking, terwijl zij zich toch vanwege hun leeftijd zorgen zouden kunnen maken.

b) Vrouwen van net 36 jaar laten liever eerst een serum test uitvoeren, alvorens een invasieve ingreep te willen ondergaan. Bij de groep ouderen zijn bovendien vrouwen met een "kostbare" zwangerschap, b.v. IVF.

Bij het bekender worden van de risico-schatting en daarnaast het bestaan van een restrictief beleid blijkt de schatting dus vooral interessant of noodzakelijk bij 2 groepen: de 34,35-jarigen en de 36,37-jarigen.

Het gevonden hoge percentage zwangeren met een verhoogd risico op Down syndroom is dus geen afspiegeling van de situatie waarin aan alle zwangeren een risico-schatting op Down syndroom zou worden aangeboden. De bovenbeschreven populatie gaf voor 11.3% van de zwangeren een verhoogd risico op Down syndroom. Door interpolatie kunnen wij bij de huidige leeftijdsopbouw het percentage in de algehele zwangerenpopulatie schatten op 7.9%.

### 6.3. Post-partum rapportage

Voor een goede interpretatie zijn bij alle berekende risico's de bijbehorende post partum gegevens belangrijk. Ook een constante terminologie is zeer gewenst. Deze laat echter te wensen over, omdat zowel door de centra, de verloskundigen en huisartsen, als door de zwangeren zelf op verschillende manier werd gerapporteerd.

Wegens de ontbrekende post partum gegevens is ook het uiteindelijke detectie percentage vooralsnog moeilijk te berekenen. Daarnaast kan door een eventuele selectieve rapportage voor alleen hoge risico's of voor bepaalde afwijkingen een vertekend beeld ontstaan met betrekking tot de specificiteit en de sensitiviteit. We hopen echter dat het merendeel van de "belangrijke" afwijkingen, met name de open neuraalbuisdefecten en vooral ook de casus met Down syndroom zijn gerapporteerd, onafhankelijk van de gevonden risico's. Op dit moment is bij de huidige onderrapportage het detectiepercentage voor de verschillende afwijkingen opmerkelijk hoog.

### 6.4. Verhoogd risico in combinatie met de gevonden afwijkingen

Bij de risico berekening wordt rekening gehouden met het gewicht van de zwangere en wordt hiervoor op grond van eigen achtergrondgegevens gecorrigeerd.

Over een correctie bij insuline-afhankelijke diabetes werd verschillend gedacht. Na discussie met inzenders werd besloten de risico-berekening voor Down syndroom zowel met als zonder correctie uit te voeren. In het verleden werden lage AFP-waarden gevonden in sera afkomstig van zwangeren met een **insuline-afhankelijke diabetes**, die niet goed ingesteld is (**2,30**). Tegenwoordig is echter het insuline meestal wel goed ingesteld, en worden minder afwijkende waarden gevonden voor AFP, en ook voor de andere parameters (**31**). Naast het feit dat nu een normale AFP-waarde wordt gevonden is waarschijnlijk ook de incidentie van aangeboren afwijkingen bij vrouwen met insuline-afhankelijke diabetes niet extra hoog.

Amerikaanse onderzoekers beschrijven een verschil in AFP-waarde tussen **zwarte en blanke** zwangeren (**32**). Bartels et al. (**33**) vinden een gering verschil in AFP-waarde tussen rokende en niet-rokende zwangeren. In onze populatie is van een beperkte groep zwangeren het **rookgedrag** bekend, echter het door ons gebruikte computerprogramma  $\alpha$  houdt geen rekening met het rookgedrag van de zwangere. De invloed van al deze factoren op de risico-berekening en het detectiepercentage zal in het volgende rapport meer in detail worden uitgewerkt.

#### 6.4.1. Down syndroom

Vanaf ongeveer 1987 schat men het risico op Down syndroom door de AFP-waarden (in MoM) met het leeftijdsrisico te combineren (8,34). Vervolgens werden ook ongeconjugeerd oestriol en hCG als parameters aan deze risico-berekening toegevoegd (6,7), hetgeen als eerste werd beschreven door Wald, Cuckle en Densem (9). Veel publicaties zijn intussen verschenen over het gebruik van andere en extra parameters ter verhoging van het detectie-percentages bij gelijkblijvend (of lager) aantal verhoogd gevonden risico's. Wald heeft recentelijk een literatuuroverzicht geschreven (28)

Bij de eenlingzwangerschappen was de MoM voor AFP, uE<sub>3</sub> en hCG respectievelijk gemiddeld 0.75, 0.66 en 2.70, extreme waarden vergeleken met die van de niet-aangedane zwangerschappen, overeenkomend met respectievelijk ca 15-, 10- en 95-percentiel. Oestriol heeft dus zeker discriminerende mogelijkheden. Het feit dat een aantal onderzoekers dit niet vinden (21) is mogelijk een gevolg van veroudering van sera, b.v. bij retrospectieve analyse. Hierdoor worden hogere E<sub>3</sub>-waarden dan de oorspronkelijke gemeten, zoals wij een verschil in E<sub>3</sub>-waarden vonden tussen verouderde en ontdooide sera, vergeleken met verse sera (35). In de hier onderzochte populatie kwam bij 35 zwangeren een kind met Down Syndroom voor. Het is mogelijk dat er meer casus met Down Syndroom waren. In de groep zonder verhoogd risico kan het aantal (niet ontdekte) gevallen met Down Syndroom groter zijn, omdat 20 à 30% van de aangedane foetus nog na 16 weken zwangerschapsduur verloren gaat. Theoretisch is in dat geval het detectiepercentages uiteraard kleiner.

Van deze 35 zwangerschappen waren er 3 tweeling-zwangerschappen waarin 4 kinderen met Down Syndroom voorkwamen. Eén van de 2 zwangeren met één aangedaan kind had een verhoogd risico, evenals de zwangere met 2 kinderen met Down syndroom. Drie van de 4 casus werden dus gevonden. In de beschouwing worden de tweelingen niet apart besproken. De incidentie en risico-berekening, en ook sensitiviteit en specificiteit zullen anders zijn. Volgens Neveux (36) is het detectiepercentages lager dan voor eenlingen, nl 53%.

#### 6.4.2. Trisomieën en andere (numerieke) chromosoomafwijkingen

Door o.a. Merkatz werd reeds beschreven dat ook andere trisomieën lage AFP-waarden veroorzaken (3,37). Het blijkt nu dat verschillende combinaties van zeer hoge en zeer lage waarden van AFP (2), uE<sub>3</sub> en hCG bij de trisomieën kunnen voorkomen, afhankelijk van eventueel andere afwijkingen die ermee gepaard gaan. Zo kunnen soms nierafwijkingen, soms open buikwanddefecten bij trisomieën voorkomen. De AFP-waarden zijn meestal laag, maar kunnen ook zeer hoog zijn. E<sub>3</sub> is vaak laag, en hCG kan zowel aan de hoge als aan de lage kant zijn.

Tegenwoordig kan dan ook via  $\alpha$  een risicoschatting worden uitgevoerd op trisomie 18, uitgaande van lage waarden voor hCG, met lage E<sub>3</sub>-waarden en lage AFP-waarden (10). Het risico op trisomie 18 werd pas het laatste jaar prospectief berekend. Tot dan toe werd slechts een lage hCG-waarde gesignaleerd. Voor de eerdere jaren werd retrospectief met de oorspronkelijke waarden van de 3 parameters alsnog een risico uitgerekend.

De positief voorspellende waarde van een verhoogd risico op trisomie 18 is hoog (10%) in vergelijking met die op Down syndroom (3.35%). Dit geldt al bij de huidige onderrapportage, zelfs zonder analyse van bepaalde omstandigheden of zwangerschapsproblemen. Doen we dit wel voor de 40 zwangerschappen met post partum rapportage dan vinden we één casus met Down syndroom, 6 maal een chromosoom-afwijking, één hygroma colli en 6 casus met een intra-uteriene vruchtdood: dwz 14 van de 40 verhoogden dus met een zeer ernstige afwijking of met een intra-uteriene vruchtdood. Ook in de literatuur wordt deze "opbrengst" opvallend genoemd (27).

Echter, trisomie 18 kan ook hoge AFP-waarden veroorzaken, zodat een verhoogd risico op NBD wordt gevonden. Bij een hoge hCG-waarde is eventueel het risico op Down syndroom verhoogd. Dit alles geldt ook voor andere trisomieën: afhankelijk van de associatie met andere afwijkingen kan dus één van de 3 risico's verhoogd zijn.

Volgens de literatuur (38,39) komt bij triploidie een hoge AFP-waarde in het serum voor. Wij vonden zowel hoge als lage waarden (2). In dit onderzoek naar de risico-schatting op Down syndroom werden bij de 2 casus van triploidie normale AFP-, lage uE<sub>3</sub>- en lage hCG-waarden gevonden, zodat uit de combinatie van waarden een verhoogd risico op trisomie 18 werd gevonden.

Het detectie percentage in dit onderzoek kan geflatteerd zijn. Het relatief grote aantal chromosoom-afwijkingen dat met een verhoogd risico gepaard ging, kan veroorzaakt zijn door onder-rapportage van de casus zonder verhoogd risico. Het is echter waarschijnlijker dat het hoge detectiepercentage vooral veroorzaakt wordt door een leeftijdsverdeling met relatief veel oudere vrouwen. Bij een daardoor hoger percentage zwangeren met een verhoogd risico worden dan ook naar verhouding meer kinderen met Down syndroom en andere afwijkingen opgespoord.

Zou men de incidentie per leeftijdsgroep van een aantal afwijkingen kennen, dan was misschien een voorlopige conclusie te trekken. Een detectiepercentage per leeftijd is zich moeilijk af te leiden uit onze gegevens. De aantallen zijn te klein, zodat we ons moeten baseren op gecombineerde literatuurgegevens.

Los van deze overwegingen staat dat door consequente controle van de op de formulieren ingevulde zwangerschapsduur, de risico-berekeningen aan betrouwbaarheid winnen, en daardoor bij een lager percentage verhoogde risico's meer afwijkingen worden gevonden (40).

#### 6.4.3. NBD

Vroeger werd voor de beoordeling of een AFP-waarde verhoogd is in het algemeen de 97-percentiel als criterium genomen (16). Deze kwam indertijd voor een totale populatie zwangeren bij iedere zwangerschapsduur overeen met ongeveer 2.5 MoM. Ondanks het feit dat nu door een kleinere spreiding van de getallen de 97-percentiel een lagere waarde heeft, handhaaft men toch in het algemeen de 2.5 MoM als grens. Hierdoor ontstaat er een groter verschil tussen de aangedane en niet-aangedane populatie, en is het mogelijk een kleinere groep zwangeren een vervolg-onderzoek aan te bieden.

Er zijn op dit moment weinig casus bekend met NBD: nl 3 met anencefalie en 7 met open spina bifida; de incidentie is laag. Bij een incidentie van respectievelijk 0.05 % en 0.09% zoals werd aangenomen door een commissie van de Gezondheidsraad (23), kan men voor een populatie van 14200 zwangeren ca 20 NBD verwachten (7 anencefalen en 13 open spina bifida). Volgens Cornel (41) is in Noord Nederland de huidige prevalentie 0.126 %, niet anders dan voor heel Nederland, met enige afname door prenatale diagnostiek.

Een andere oorzaak in de door onderzochte groep kan zijn een eerdere opsporing via echoscopie, zodat na ontdekking geen risico bepaling meer wordt uitgevoerd. Ook kan het gebruik van foliumzuur de incidentie doen afnemen. Echter, de foliumzuur campagne loopt pas vanaf september 1995. Het blijkt echter dat de incidentie niet veel is teruggelopen.

Van de open spina bifida casus werd er één niet ontdekt; de bewuste zwangere gebruikte echter valproaat als geneesmiddel bij epilepsie. Het is bekend dat de geneesmiddelen **valproaat** (depakine) en **carbamazepine** (tegretol), medicijnen bij epilepsie, neuraalbuisdefecten kunnen induceren (24), waarbij echter vaak de AFP-waarde niet verhoogd is. Dit is waarschijnlijk het gevolg van een structureel ander sluitingsdefect, zodat minder AFP lekt (22,25).

De incidentie bij gebruik van valproaat is ca 10 maal hoger dan bij de normale populatie, nl 1 à 2% **(42)**. De incidentie van neuraalbuisdefecten bij gebruik van carbamazepine is ongeveer 1% **(43)**. Overigens was de AFP-waarde bij een van de 6 zwangeren met open spina bifida die carbamazepine gebruikte, wèl verhoogd. Op het gebruik van beide geneesmiddelen en de complicaties wordt later teruggekomen.

Bij de counseling van de zwangere en dus ook in onze informatie aan inzender is dit een aspect dat ter sprake moet komen. Correctie voor de gevonden AFP-waarde is geen optie omdat de mediane AFP-waarde bij zwangeren die valproaat gebruiken nauwelijks afwijkend is van die van de normale populatie (in onze beide onderzoeken een mediane waarde van 1.06 MoM).

Bij **zwangerschapsproblemen** die hier niet werden geanalyseerd, kunnen extreem lage of extreem hoge waarden van de 3 parameters ontstaan. Bij een missed abortion of een intra-uteriene vruchtdood vlak vóór de bepaling zijn in het algemeen de waarden zeer hoog. Een vroege intra-uteriene vruchtdood gaat echter met lage waarden samen. Ook een partus immaturus, een foetomaternale transfusie, bloedverlies, oligohydramnion, enz kunnen hoge AFP-waarden veroorzaken **(44,45)**. Daarnaast kan de E<sub>3</sub>-waarde extra laag en de hCG-waarde zowel zeer hoog als zeer laag zijn. De extreem hoge of lage waarden van de 3 parameters kunnen dus de risico-berekening sterk beïnvloeden. **(2)**.

### **6.5. Sensitiviteit, specificiteit, positief en negatief voorspellende waarde**

Het relatief hoge detectiepercentage in dit onderzoek valt te verklaren uit 1) de leeftijdsverdeling, 2) het nauwkeurig vaststellen van de zwangerschapsduur en gewichtscorrectie, 3) selectieve rapportage waarbij de niet gevonden casus met Down syndroom, chromosoomafwijkingen en NBD mogelijk niet werden gerapporteerd, en 4) bij de niet verhoogden een groter aantal (niet ontdekte) gevallen van Down Syndroom omdat 20 à 30% van deze foetus nog na 16 weken zwangerschapsduur verloren gaat. De tabellen 9 t/m 15 zijn zeker niet definitief, en kunnen geflatteerd zijn.

Na verdere rapportage zullen de sensitiviteit, specificiteit en de voorspellende waarden van de risico-bepalingen met betrekking tot de opsporing van neuraalbuis-defecten, Down syndroom en andere chromosoomafwijkingen als in tabel 13 en 14a en b veranderen. Bij rapportage van afwijkingen met en zonder verhoogd risico worden de getallen in de linker kolom groter:

De voorspellende waarde zal altijd hoger worden, meer afwijkingen met verhoogd risico na volledige post partum rapportage. De sensitiviteit kan veranderen in beide richtingen, afhankelijk van het feit hoe selectief de rapportage was. De specificiteit en negatief voorspellende waarde kunnen alleen maar lager worden.

## 7. CONCLUSIE

- Als gevolg van de invoering van de Wet bevolkingsonderzoek (WBO), is het soort inzenders van de triple test verschoven van de tweede naar de eerste lijn zwangerschapsbegeleiders, zodat voorlichting aan de zwangeren en kwaliteitscontrole van de gehele risico schatting moeilijker zijn geworden.
- De leeftijd van de zwangeren die een risico-berekening laten uitvoeren is veel hoger dan gemiddeld. Hierdoor krijgt men niet een goed beeld van het aantal zwangeren met een verhoogd risico in de algehele Nederlandse populatie zwangeren. Echter kan men het aantal verhoogden in die populatie zwangeren berekenen uit het leeftijdsgebonden risico.
- Ondanks de onderrapportage werden veel afwijkingen ontdekt. Er werd een groot gedeelte van de gevallen met Down syndroom gevonden, nl 85.7%. Ook veel andere chromosoomafwijkingen worden via de risico-berekeningen gevonden.
- Bij de huidige hoeveelheid post partum-gegevens wordt een sensitiviteit van 86.3% en een specificiteit van 87.1% gevonden. Beide zijn hoog en kunnen nog hoger worden bij het verder beschikbaar komen van meer gegevens.
- De positief voorspellende waarde op Down syndroom is bij deze rapportage 3.35%. Deze is afhankelijk van de incidentie en daardoor van de leeftijd van de zwangere. Daarnaast is er een positief voorspellende waarde van 10% voor chromosoomafwijkingen bij een verhoogd risico op trisomie 18, terwijl slechts 0.4% van de zwangeren hiervoor een verhoogd risico heeft.
- Ook andere afwijkingen en zwangerschapsproblemen worden opgespoord via de test, maar niet verder in dit rapport uitgewerkt.

**LITERATUUR**

1. Wald NL, Cuckle HS. United Kingdom collaborative study on alpha-fetoprotein in relation to neural tube defects: Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. *The Lancet* 1977; I:1323-32.
2. Hagens AM. Opsporing van foetale neuraalbuisdefecten door middel van de bepaling van alpha-1-fetoproteïne in maternaal serum. Eindrapportage over de jaren 1977-1990. RIVM-rapport 1997; nr. 199101005.
3. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum  $\alpha$ 1-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynec* 1984;148:886-94.
4. Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *Jama* 1983;249:2043.
5. Wald NJ, Cuckle HS. Recent advances in screening for neural tube defects and Down's Syndrome. *Baillière's Clin Obstet Gynec* 1987; 1:649-76.
6. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Brit J Obstet Gynaecol* 1988; 95:330-3.
7. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7:623-30.
8. Tabor A, Olesen Larsen S, Nielsen J, Philip J, Pilgaard B, Videbech P, Nørgaard-Pedersen. Screening for Down's syndrome using an iso-risk curve based on maternal age and serum alpha-fetoprotein level. *Brit J Obstet Gynecol* 1987; 94:636-42.
9. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, Canick JA. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Brit Med J* 1988; 297:883-7.
10. Canick JA, Palomaki GE, Osathanondh R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Pren Diagn* 1990; 10:546-8.
11. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Kennard A, Smith D. Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Brit J Obst Gynecol* 1992; 99:144-9.
12. Aitken DA, McCaw G, Crossley JA, Berry E, Connor JM, Spencer K, Macri JN. First trimester biochemical screening for fetal chromosome abnormalities and neural tube defects. *Pren Diagn* 1993;13:681-689.
13. Wald NJ. Antenatal screening software for Down's syndrome and neural tube defects. Logical Medical Systems Ltd, London.
14. Haddow JE, Kloza EM, Knight GJ, Smith DE. Relation between maternal weight and serum alpha-fetoprotein concentration during the second trimester. *Clin Chem* 1981; 27:133-4.
15. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Koch KE. Maternal serum  $\alpha$ 1-fetoprotein screening, maternal weight, and detection efficiency. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:758-60.
16. Centraal Bureau vd Statistiek: Statistisch Jaarboek 1995 en 1997, beide blz 36.
17. Veen WJ vander, Beekhuis JR, Cornel MC, Mantingh A, deWalle HEK, deWolf BTHM. A demographic approach to the assessment of Down syndrome screening performance. *Pren Diagn* 1997; 17:717-724.
18. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Sunderji SG, Larsen JW. Maternal serum Down syndrome screening: unconjugated estriol is not useful. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:672-3.
19. Wald NJ, Kennard A, Densem J, Cuckle HS, Chard T, Butler L. Antenatal maternal serum screening for Down's syndromw: results of a demonstration project. *BMJ* 1992; 305:391-4.
20. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992;327:588-93.
21. Leroy JG, Niermeijer MF. In *Kindergeneeskunde*, red Brande JL van de, Monnens LAH. Wetensch Uitg Bunge Utrecht 1993: 168-174.
22. Omtzigt JG. Epilepsy, antiepileptic drugs, and birth defects. Proefschrift Rotterdam; 1992.
23. Neuraalbusdefecten, Advies door een commissie van de Gezondheidsraad. 1988; blz 43 ev.
24. Robert E, Guibaud P. Maternal valproic acid and congenital neural tube defects. *The Lancet* 1982; ii:937.
25. Omtzigt JGC, Los FJ, Hagens AM, Stewart PA, Sachs ES, Lindhout D. Prenatal diagnosis of spina bifida aperta after first-trimester valproate exposure. *Prenat Diagn* 1992; 12:893-7.
26. Aranguren G, Garcia-Minaur S, Loidan L, Urizarren A, Vargas LM, Rodriguez-Soriano J. Multiple-marker screen positive results in Noonan syndrome. *Prenat Diagn* 1996; 16:183-4.
27. Palomaki GE, Haddow JE, Knight GJ, Wald NJ, Kennard A, Canick JA, Saller D, Blitzer MG, Dickerman LH, Fisher R, Hansmann D, Hansmann M, Luthy DA, Summers A, Wyatt Ph. Risk-based prenatal screening for trisomy 18 using alpha-fetoprotein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin. *Pren Diagn* 1995;15:713-23.

28. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997;4:181-246
29. Huang T, Watt HC, Wald NJ. The effect of differences in the distribution of maternal age in England and Wales on the performance of antenatal screening for Down's syndrome. *pren Diagn* 1997;17:615-21.
30. Reece EA, Davis N, Mahony MJ, Baumgarten A. Maternal serum alpha-fetoprotein in diabetic pregnancy: correlation with blood glucose control. *The Lancet* 1987; 275.
31. Crossley JA, Berry E, Aitken DA, Connor M. Insulin dependent diabetes mellitus and prenatal screening results: current experience from a regional screening programme. *Pren Diagn* 1996;16:1039-42.
32. Baumgarten A. Racial difference and biological significance of maternal serum alpha-fetoprotein. *The Lancet* 1986; 573.
33. Bartels I, Hoppe-Sievert B, Bockel B, Herold S, Caesar J. Adjustment formulae for maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated oestriol to maternal weight and smoking. *Pren Diagn* 1993; 13:123-30.
34. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Brit J Obstet Gynecol* 1987;94:387-402.
35. Hagensaars AM, Elvers LH, Esmeijer A, Loeber JG. Evaluatie van twee commerciële kits voor humaan choriogonadotropine- $\beta$  subunit en ongeconjugueerd oestriol ten behoeve van de risicoschatting op Down syndroom. RIVM-rapport 1993; nr. 199101002.
36. Neveux LM, Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE. Multiple marker screening for Down syndrome in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 1996; 16:29-34.
37. Doran TA, Cadesky K, Wong PY, Mastrogiacomo C, Capello T. Maternal serum  $\alpha$ 1-fetoprotein and fetal autosomal trisomies. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154:277-81.
38. Haddow JE. Prenatal screening for open neural tube defects, Down's syndrome, and other major fetal disorders. *Seminars in Perinatology* 1990; 14:488-503.
39. Nelson LH, Bensen J, Burton BK. Outcomes in patients with unusually high maternal serum  $\alpha$ 1-fetoprotein levels. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 572-6.
40. Bishop J, Dunstan FDJ, Nix BJ, Reynolds TM. The effects of gestation dating on the calculation of patient specific risks in Down's syndrome screening. *Ann Clin Biochem* 1995; 32:464-77.
41. Cornel MC, Leurquin P, de Walle HEK, Staal-Schreinemachers AL, Beekhuis JR. Epidemiologie van prenatale diagnostiek en selectieve zwangerschapsafbreking vanwege foetale neuralebuisdefecten in Nederland in vergelijking met andere Europese landen. *NTvG* 1997;141:2239.
42. Guibaud S, Robert E, Simplot A, Boisson C, Francannet C, Patouraux MH. Prenatal diagnosis of spina bifida aperta after first-trimester valproate exposure. *Prenat Diagn* 1993; 13:772-3.
43. Rosa FW. Spina bifida in infants of women treated with carbamazepine during pregnancy. *New Engl J Med* 1991; 324:674-7.
44. Cuckle H, Oudgaarden ED van, Mason G, Holding S. Taking account of vaginal bleeding in screening for Down's syndrome. *Brit J Obstet Gynecol* 1994; 101:948-53.
45. Los FJ, Hagensaars AM, Cohen-Overbeek TE, Quarero HWP. Maternal serum markers in second-trimester oligohydramnios. *Pren Diagn* 1994; 14:565-8.