

**ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ SÀNG LỌC TRƯỚC SINH KHÔNG XÂM LẤN
PHÁT HIỆN SỚM LỆCH BỘI NHIỄM SẮC THỂ THAI TRÊN
CÁC THAI PHỤ CÓ NGUY CƠ CAO BẰNG PHƯƠNG PHÁP
LÀM GIÀU DNA THAI TỰ DO TRONG MÁU MẸ**

Đào Thế Anh^{1,3}, Hồ Sỹ Hùng^{1,2}

Đặng Tiến Trường³, Nguyễn Duy Bắc^{3}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định hiệu quả của sàng lọc trước sinh không xâm lấn (non-invasive prenatal testing - NIPT) cải tiến bằng quy trình làm giàu DNA trong việc phát hiện các lệch bội nhiễm sắc thể (NST) thai. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 436 thai phụ có nguy cơ cao, khám tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội từ tháng 4/2021 - 12/2024. Các thai phụ đều có tuổi thai > 8 tuần và có ít nhất một yếu tố nguy cơ. Kết quả NIPT được so sánh với NST đồ từ mẫu chọc ối. Quy trình nghiên cứu bao gồm thu thập 10mL mẫu máu tĩnh mạch của thai phụ được để tách chiết DNA tự do thai nhi. Quy trình làm giàu DNA được thực hiện nhằm tăng tỷ lệ DNA thai nhi và nâng cao độ chính xác của xét nghiệm. Kết quả sau đó được giải trình tự và phân tích để phát hiện các bất thường NST. **Kết quả:** Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm cho các loại lệch bội NST 21, 18, 13 lần lượt là 93,3%; 99,0%; 87,5% và 99,5%; độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm cho trisomy NST giới tính lần lượt là 88,89%; 99,0%; 66,6% và 99,6%, thể hiện độ chính xác cao của phương pháp. **Kết luận:** NIPT cải tiến bằng làm giàu DNA tự do là công cụ mạnh mẽ trong sàng lọc trước sinh.

Từ khóa: Sàng lọc trước sinh không xâm lấn; DNA tự do thai nhi; Lệch bội nhiễm sắc thể.

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Phụ sản Trung ương

³Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Duy Bắc (nguyenduybac76@gmail.com)

Ngày nhận bài: 20/3/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 25/4/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i5.1264>

ASSESSMENT OF NON-INVASIVE PRENATAL TESTING RESULTS FOR EARLY DETECTION OF CHROMOSOMAL ANEUPLOIDY IN HIGH-RISK PREGNANT WOMEN USING ENRICHMENT METHOD FOR FETAL CELL-FREE DNA IN MATERNAL BLOOD

Abstract

Objectives: To determine the effectiveness of improved NIPT through a DNA enrichment process in detecting chromosomal aneuploidies in fetuses. **Methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 436 high-risk pregnant women examined at Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital from January 2021 to December 2024. All pregnant women were over 8 weeks of gestation and had at least one risk factor. NIPT results were compared with karyotyping from amniotic fluid samples. Research process: A 10mL venous blood sample was collected to extract cell-free fetal DNA. The DNA enrichment process was performed to increase the proportion of fetal DNA and enhance the accuracy of the test. The results were then sequenced and analyzed to detect chromosomal abnormalities. **Results:** Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value for trisomy 21, 18, and 13 were 93.3%, 99.0%, 87.5%, and 99.5%, respectively; sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value for sex chromosome trisomy were 88.89%, 99.0%, 66.6%, and 99.6%, demonstrating the high accuracy of the method. **Conclusion:** Improved NIPT using free DNA enrichment is a powerful tool in prenatal screening.

Keywords: Non-invasive prenatal testing; Fetal cell-free DNA; Chromosomal aneuploidy.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tại Việt Nam, 2,01% các ca tử vong được ghi nhận có nguyên nhân từ các dị tật bẩm sinh và bất thường NST [1]. Nhiều nghiên cứu quốc tế đã chỉ ra lệch bội NST là nguyên nhân chính dẫn đến dị tật bẩm sinh và sảy thai, chiếm khoảng 5% tổng số trường hợp mang thai [2]. Có tới 0,3% tổng số các ca trẻ

sinh sống mang lệch bội NST, trong đó chủ yếu là trisomy 21 và lệch bội NST giới tính [2]. Việc sàng lọc và chẩn đoán trước sinh sẽ giúp làm giảm tỷ lệ các trẻ mang dị tật bẩm sinh và tử vong chu sinh.

Các phương pháp sàng lọc và chẩn đoán trước sinh đóng vai trò quan trọng trong việc giảm thiểu tỷ lệ trẻ em dị tật

bẩm sinh và tử vong chu sinh. Những phương pháp sàng lọc trước sinh truyền thống như siêu âm hình thái và phân tích huyết thanh thai phụ chỉ có thể phát hiện lệch bội NST với tỷ lệ phát hiện trisomy 21 dao động từ 50 - 95%, và tỷ lệ dương tính giả khoảng 5% [3]. Để chẩn đoán xác định, các thai phụ có nguy cơ cao thường phải thực hiện các thủ thuật xâm lấn như lấy mẫu gai rau hoặc hút dịch ối, gây nguy cơ tiềm ẩn cho thai phụ với tỷ lệ sảy thai dao động từ 0,1 - 1% [4].

Gần đây, xét nghiệm NIPT (xét nghiệm DNA tự do thai nhi trong máu mẹ) đã được chứng minh là phương pháp sàng lọc hiệu quả trong việc phát hiện các bất thường NST. Các kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ phát hiện trisomy 21 đạt đến 99,2%, tỷ lệ dương tính giả chỉ khoảng 0,09%. Tương tự, tỷ lệ phát hiện trisomy 18 và 13 lần lượt đạt 96,3% và 91,0%, với tỷ lệ dương tính giả lần lượt là 0,13% [5].

Phương pháp này dựa vào DNA tự do thai nhi trong máu mẹ. Tỷ lệ DNA tự do thai nhi trong máu mẹ < 4% thường dẫn đến sàng lọc không thành công, giảm độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm hoặc cho kết quả âm tính giả [6]. Để khắc phục tình trạng tỷ lệ DNA tự do thai nhi thấp cũng như tăng dữ liệu của thai nhi trong quá trình giải trình tự, tác giả Lo và CS đã thực hiện phân tích kích thước DNA tự do trong huyết

tương. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng kích thước của DNA tự do thai nhi tập trung khoảng < 200bp [7]. Nhìn chung, các đoạn DNA tự do thai nhi đều < 300bp và khoảng 20% các đoạn DNA tự do của mẹ > 300bp [8,9]. Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu: *Làm giàu DNA nhằm ưu tiên giải trình tự đoạn DNA tự do ngắn hơn để làm tăng tỷ lệ DNA tự do thai nhi.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 436 thai phụ có nguy cơ cao, đăng ký khám tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội từ tháng 4/2021 - 12/2024. Các thai phụ đều có tuổi thai > 8 tuần và có ít nhất một yếu tố nguy cơ. Kết quả NIPT được so sánh với chẩn đoán xác định bằng NST đồ từ mẫu chọc ối.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang có so sánh.

* *Quy trình nghiên cứu:* Thu thập 10mL mẫu máu thai phụ tách chiết cffDNA, tạo thư viện và làm giàu bằng E-Gel SizeSelect II 2% Agarose Gels cùng với hệ thống điện di E-Gel Power Snap Electrophoresis giúp thu được đoạn DNA với kích thước mong muốn trực tiếp, sau đó DNA được giải trình tự, đưa ra kết luận về số lượng NST. Các thai phụ được chọc ối làm NST đồ

sau khi thai được 16 tuần tuổi. Kết quả NIPT sẽ được so sánh với kết quả NST đồ để xác định độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán âm, giá trị tiên đoán dương.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng Đạo đức nghiên cứu Y sinh học của Viện Nghiên cứu Hệ Gen (Số 10-2019/NCHG-HĐĐĐ ngày 30/10/2019); Hội đồng Đạo đức Y sinh học, Đại học Y Hà Nội (Số: 668/GCN-HĐĐĐNCYSH-

ĐHYHN ngày 29/3/2023). Tất cả thai phụ tham gia đã ký giấy đồng ý cam kết tự nguyện. Nghiên cứu được thực hiện theo các nguyên tắc đạo đức nghiêm ngặt trong nghiên cứu y học, tuân thủ đầy đủ các quy định do Học viện Quân y, Đại học Y Hà Nội ban hành. Số liệu nghiên cứu được Đại học Y Hà Nội, Học viện Quân y và Bệnh viện Phụ sản Hà Nội cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm	Giá trị
Tuổi mẹ	
Tuổi mẹ trung bình (năm)	$29,9 \pm 5,7$ (15 - 54)
< 35 tuổi (n, %)	340 (78)
≥ 35 tuổi (n, %)	96 (22)
Tuổi thai	
Tuổi thai trung bình (tuần)	$15,6 \pm 3,3$ (10 - 26)
10 - 13 tuần 6 ngày (n, %)	131 (30)
14 - 20 tuần 6 ngày (n, %)	274 (62,8)
≥ 21 tuần (n, %)	31 (7,2)

Nghiên cứu tiến hành trên 436 thai phụ có tuổi trung bình là $29,9 \pm 5,7$. Tuổi mẹ ≥ 35 chiếm 22%. Tuổi thai trung bình là $15,6 \pm 3,3$. Tuổi thai 10 - 20 tuần 6 ngày cao, chiếm 92,8%.

2. Đánh giá kết quả sàng lọc của NIPT**Bảng 2.** Kết quả đánh giá nguy cơ bất thường NST của xét nghiệm NIPT.

Kết quả xét nghiệm NIPT	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
NCT	363	83,2
NCC T13	2	0,5
NCC T18	7	1,6
NCC T21	23	5,3
NCC T3, T7, T8, T10, T16, T20	7	1,6
NCC XO	21	4,8
NCC XXX	3	0,7
NCC XXY/XYX	9	2,1
NCC đa bội	1	0,2
Tổng	436	100

Tỷ lệ mẫu có nguy cơ cao bị rối loạn NST phổ biến T13, T18, T21, Monosomy X, Trisomy NST giới tính lần lượt đạt 0,5%; 1,6%; 5,3%; 4,8%; 2,8%.

Bảng 3. Kết quả NST đồ của 436 mẫu lâm sàng.

Kết quả NST đồ	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
46,XX hoặc 46,XY	387	88,8
47,XX hoặc XY,+13	1	0,2
47,XX hoặc XY,+18	8	1,9
47,XX hoặc XY,+21	21	4,8
45, XO	8	1,9
47,XXX/XXY/XYX	10	2,2
69, XXY	1	0,2
Tổng	436	100

Tỷ lệ mẫu bị rối loạn NST phổ biến T13, T18, T21, Monosomy X, Trisomy NST giới tính lần lượt đạt 0,2%; 1,9%; 4,8%; 1,9%; 2,2%. Tỷ lệ mắc lệch bội NST 21, 18, 13 và NST giới tính chung là 11,2%. Do hạn chế về thời gian nghiên cứu và khó khăn trong khâu thu thập mẫu nên số lượng mẫu mang các rối loạn NST thu được còn khá khiêm tốn.

Bảng 4. Kết quả so sánh giữa xét nghiệm NIPT và NST đồ.

Loại bất thường NST	TP	FP	TN	FN
T13	1	1	435	0
T18	6	1	430	2
T21	21	2	425	0
T13 + T18 + T21	28	4	408	2
Monosomy X	13	8	423	1
Trisomy NST giới tính	8	4	428	1

(TP: Dương tính thật; FP: Dương tính giả; TN: Âm tính thật; FN: Âm tính giả)

Nghiên cứu phát hiện 73 thai phụ có kết quả NIPT dương tính, trong đó lần lượt có 23, 7, 2, 33 trường hợp trisomy 21, 18, 13 và lệch bội NST giới tính. Sau khi làm xét nghiệm chẩn đoán xác định phát hiện lần lượt có 1, 1, 2, 12 trường hợp có kết quả NIPT dương tính giả với trisomy 13, 18, 21 và NST giới tính. Phát hiện 2, 1, 1 trường hợp có kết quả NIPT âm tính giả với lệch bội NST 18, Monosomy X và Trisomy NST giới tính.

Bảng 5. Giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV của xét nghiệm NIPT.

Loại bất thường NST	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	PPV (%)	NPV (%)
T13	100	99,7	50	100
T18	75	99,7	85,7	99,5
T21	100	99,5	91,2	100
T13 + T18 + T21	93,3	99,0	87,5	99,5
Monosomy X	92,8	98,0	61,9	99,8
Trisomy NST giới tính	88,89	99,0	66,6	99,6

(PPV: Giá trị tiên đoán dương; NPV: Giá trị tiên đoán âm).

Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm cho các loại lệch bội NST 21, 18, 13 lần lượt là 93,3%, 99%, 87,5% và 99,5%. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm cho trisomy NST giới tính lần lượt là 88,8%, 99%, 66,6% và 99,6%.

BÀN LUẬN

Đối tượng trong nghiên cứu này là những thai phụ có tuổi trung bình 29,9, chủ yếu là phụ nữ ở độ tuổi sinh đẻ, thể hiện sự tập trung vào nhóm tuổi có nguy cơ cao về các bất thường NST.

Tuổi thai trung bình là 15,6 tuần cho thấy phần lớn các thai phụ nằm trong giai đoạn đầu giữa của thai kỳ, rất phù hợp với việc thực hiện xét nghiệm NIPT.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ nhạy của NIPT cho T13 và T21 đạt 100%, xét nghiệm này có khả năng phát hiện chính xác tất cả các trường hợp mắc trisomy 21 và 13. Kết quả này rất ấn tượng và phù hợp với những nghiên cứu khác trên thế giới như của Gil và CS (2015), cho thấy NIPT có độ nhạy cao trong việc phát hiện các bất thường này [5]. Mặt khác, độ nhạy của T18 chỉ đạt 75%. Kết quả này thấp hơn so với T13 và T21, phản ánh thách thức trong việc phát hiện DNA tự do của thai nhi cho loại bất thường này. Nghiên cứu của Dines và CS (2018) cho thấy độ nhạy của NIPT cho T18 đôi khi không đạt mức tối ưu, vì vậy đây vẫn là một thách thức trong lĩnh vực sàng lọc trước sinh [4].

Giá trị độ đặc hiệu của xét nghiệm NIPT với trisomy các NST thường gặp 13, 18, 21 đều đạt > 99%. Kết quả nghiên cứu của Liang và CS (2018) thu được độ nhạy đối với tất cả các loại bất

thường đều đạt tối đa 100%, độ đặc hiệu đạt 99,90 - 100% [10].

Như vậy, có thể thấy hầu hết các giá trị độ nhạy và độ đặc hiệu thu được trong nghiên cứu của Liang và CS (2018) đều cao hơn so với nghiên cứu này do trong nghiên cứu của chúng tôi có số lượng mẫu được phân tích còn khiêm tốn (436 mẫu so với 2.153 mẫu) [10].

Kết quả thu được từ nghiên cứu này cho thấy việc áp dụng làm giàu cffDNA vào quy trình NIPT là có ý nghĩa giúp tăng tỷ lệ DNA thai trong máu mẹ, giảm nguy cơ thất bại của xét nghiệm, giúp tiết kiệm hóa chất. Từ đó, giảm giá thành của xét nghiệm NIPT và giúp nhiều sản phụ có thể tiếp xúc với xét nghiệm hơn.

Nghiên cứu này có một số hạn chế để định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo: Tổng số mẫu 436 và số trường hợp bất thường NST hiếm (T13: 1 mẫu, T18: 8 mẫu, Monosomy X: 8 mẫu) còn nhỏ, đặc biệt khi so sánh với các nghiên cứu quốc tế. Điều này làm giảm độ mạnh thống kê và khả năng khái quát hóa kết quả, đặc biệt với các lệch bội ít phổ biến. Nhóm thai phụ ≥ 35 tuổi chỉ chiếm 22%, trong khi đây là nhóm có nguy cơ cao cần được đánh giá sâu hơn về hiệu quả của NIPT. Không có mẫu nào từ tuổi thai 8 - 10 tuần, mặc dù phương pháp làm giàu DNA hứa hẹn cải thiện hiệu suất xét nghiệm ở giai

đoạn sớm. Hạn chế này xuất phát từ tâm lý e ngại của thai phụ, làm giảm khả năng đánh giá toàn diện tính ứng dụng của NIPT cải tiến.

Giá trị tiên đoán dương của T13 (50%) và Monosomy X (61,9%) cho thấy tỷ lệ dương tính giả cao, có thể do nhiễu từ DNA mẹ hoặc tỷ lệ cffDNA thấp.

KẾT LUẬN

NIPT tối ưu hóa bằng phương pháp làm giàu DNA tự do trong máu mẹ là phương pháp hứa hẹn với khả năng cao trong việc phát hiện các lệch bội NST phổ biến như Trisomy 13, 18, 21 và NST giới tính. Tuy nhiên, cần phải có thêm nhiều nghiên cứu để hoàn thiện và nâng cao độ chính xác của phương pháp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Niên giám thống kê y tế 2018.
2. Hassold T & Hunt P. To err(meiotically) is human: The genesis of human aneuploidy. *Nature Reviews Genetics*. 2001; 2(4):280-291. <https://doi.org/10.1038/35066065>.
3. Nicolaides KH. Screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003; 21:313-321.
4. Dines JN, Eckel AM, Cheng EY, & Lockwood CM. A paradigm shift: Considerations in prenatal cell-free DNA screening. *The Journal of Applied*

Laboratory Medicine: An AACC Publication. 2018; 2(5):784-796. <https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023119>.

5. Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: Updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015; 45:249-266.

6. Lo YD, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Science Translational Medicine*. 2010; 2(61):61ra91-61ra91.

7. Qiao L, et al. Sequencing shorter cfDNA fragments improves the fetal DNA fraction in noninvasive prenatal testing. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019; 221(4):345.e1-345.e11.

8. Stephanie C, et al. Size-based molecular diagnostics using plasma DNA for noninvasive prenatal testing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014; 111(23):8583-8588.

9. Chan KA, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clinical Chemistry*. 2004; 50(1):88-92.

10. Liang B, et al. Enrichment of the fetal fraction in non-invasive prenatal screening reduces maternal background interference. *Scientific Reports*. 2018; 8(1):1-8.