

GIÁ TRỊ CỦA QF-PCR TRONG CHẨN ĐOÁN NHANH TRƯỚC SINH RỐI LOẠN SỐ LƯỢNG NHIỄM SẮC THỂ

Nguyễn Khắc Hán Hoan*, Phùng Như Toàn*, Quách Thị Hoàng Oanh*, Trần Nguyễn An Phú*,

Nguyễn Thị Như Hoàng*

Đặt vấn đề: Lệnh bội là nguyên nhân quan trọng gây ra sẩy thai và dị tật bẩm sinh. QF-PCR là kỹ thuật mới trong chẩn đoán trước sinh nhằm phát hiện và can thiệp sớm thai bị các bất thường này. Mục tiêu: Khảo sát giá trị của kỹ thuật QF-PCR trong chẩn đoán nhanh trước sinh các rối loạn số lượng nhiễm sắc thể.

Đối tượng và phương pháp: Các trường hợp thai có nguy cơ cao bị rối loạn nhiễm sắc thể được tầm soát phát hiện qua tiền căn sinh con dị tật bẩm sinh, xét nghiệm và siêu âm sẽ được chọn ôi và chẩn đoán trước sinh nhiễm sắc thể 13, 18, 21, X, Y bằng kỹ thuật QF-PCR và so sánh kết quả với kỹ thuật tiêu chuẩn vàng là karyotype.

Kết quả: Trong số 400 thai được chẩn đoán trước sinh có 36 thai mang rối loạn nhiễm sắc thể (36/400; 9,0%). Kết quả này có tỉ lệ tương hợp 100% với kết quả karyotype. QF-PCR có độ nhạy là 100% (36/36), độ đặc hiệu là 100% (364/364), giá trị tiên đoán dương là 100% (36/36) và giá trị tiên đoán âm là 100% (364/364). Có 2 trường hợp thể khảm (46,XX/45,XO và 46,XX/47,XX,+21) được QF-PCR cho tín hiệu bất thường nhưng không thể kết luận. QF-PCR cũng phát hiện 2 trường hợp trisomy nhưng không biểu hiện được bản chất cấu trúc của chúng là 46,XX,-13,+t(13;13) và 46,XX,dup(18). Thời gian để thu nhận được kết quả từ kỹ thuật QF-PCR trung bình là 48 giờ.

Kết luận: QF-PCR là kỹ thuật chẩn đoán nhanh, đáng tin cậy trong chẩn đoán trước sinh rối loạn số lượng nhiễm sắc thể nhưng hạn chế trong chẩn đoán thể khảm và bất thường cấu trúc; do đó, cần chỉ định thêm kỹ thuật karyotype cho các trường hợp này.

Từ khóa: QF-PCR, rối loạn nhiễm sắc thể, chẩn đoán trước sinh, trisomy.

ABSTRACT

VALUES OF QF-PCR IN FAST PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOME DISORDERS

Nguyen Khac Han Hoan, Phung Nhu Toan, Quach Thi Hoang Oanh, Tran Nguyen An Phu,

Nguyen Thi Nhu Hoang * Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Vol. 17 - No 3 - 2013: 149 - 156

Introduction: Aneuploidy is an important issue causing miscarriage and congenital abnormalities. QF-PCR is a new method in prenatal diagnosis of those disorders.

Objective: To evaluate the values of QF-PCR in fast prenatal diagnosis of chromosome disorders.

Method: Pregnancies detected at high risk of chromosome disorders via history of congenital abnormalities or biochemistry and ultrasound screening were performed amniocentesis and analysed chromosome 13, 18, 21, X and Y with QF-PCR and compared to gold standard karyotype.

Result: 400 pregnancies were diagnosed in which 36 fetuses are affected with chromosome disorder (36/400; 9.0%). Results from QF-PCR were 100% concordant with karyotype. The sensitivity, specificity, negative predictive value and positive predictive value were 100% (36/36), 100% (364/364), 100% (36/36) and 100% (364/364), respectively. There were two mosaicism cases including 46,XX/45,XO and 46,XX/47,XX,+21 which were inconclusive with QF-PCR. Two trisomy cases detected by QF-PCR were 46,XX,-13,+t(13;13) and 46,XX,dup(18). Average turn around time of QF-PCR was 48 hours. Conclusion: QF-PCR is a fast and reliable

* Khoa Xét nghiệm Di truyền Y học, Bệnh viện Từ Dũ.

Tác giả liên lạc: TS. Nguyễn Khắc Hán Hoan

ĐT: 0918182834

, Email: drhoan@gmail.com

method in prenatal diagnosis of chromosome disorders but limited in detecting mosaicism and structural abnormalities. Karyotype is necessary in such cases.

Keywords: QF-PCR, chromosome disorder, prenatal diagnosis, trisomy.

ĐẶTVẤNĐỀ

Bất thường nhiễm sắc thể (NST) là một trong các nguyên nhân gây dị tật bẩm sinh, chậm phát triển tâm thần, thể chất, rối loạn giới tính và sảy thai tự nhiên. Trong đó, phổ biến nhất là trisomy 21 (hội chứng Down), trisomy 18 (hội chứng Edward), trisomy 13 (hội chứng Patau) và các bất thường về NST giới tính như hội chứng Turner (45,XO), hội chứng Klinefelter (47,XXY). Bất thường số lượng NST thường tăng theo tuổi của thai phụ và do lỗi không phân ly NST trong quá trình tạo giao tử dẫn đến thừa hoặc thiếu một NST⁽¹⁾.

Việc chẩn đoán trước sinh (CDTS) các bất thường NST bằng kỹ thuật nuôi cấy tế bào ối và lập bộ karyotype đã được thực hiện từ năm 1966 nhưng mất nhiều công và thời gian. Kỹ thuật FISH cũng có năng suất kém và mất nhiều công mặc dù có thể khảo sát nhanh NST 13, 18, 21, X, Y. Gần đây, phương pháp di truyền phân tử QF-PCR (quantitative fluorescent polymerase chain reaction) đã được phát triển để chẩn đoán nhanh các bất thường NST bằng cách khảo sát và định lượng các trình tự STR (short tandem repeat) đặc trưng của NST bằng các cặp mồi huỳnh quang⁽²⁾. Phương pháp này cho kết quả nhanh trong vòng 48 giờ, có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, với ưu điểm nổi bật là năng suất cao và giá thành thấp.

Mục tiêu nghiên cứu

Khảo sát giá trị của phương pháp QF-PCR trong chẩn đoán trước sinh nhiễm sắc thể 13, 18, 21, giới tính từ mẫu dịch ối.

ĐỐI TƯỢNG-PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu test chẩn đoán.

Đối tượng

Đối tượng chọn mẫu là những thai phụ đến khám thai tại Bệnh viện Từ Dũ được chỉ định xét nghiệm karyotype tế bào ối để CDTS vì thai có nguy cơ cao bị rối loạn số lượng NST 21, 13, 18 và NST giới tính do một hoặc nhiều yếu tố sau: tiền sử sinh con bị bất thường nhiễm sắc thể 13, 18, 21, X, Y hoặc dị tật bẩm sinh; siêu âm có dấu hiệu của lệch bội NST hoặc có dị tật bẩm sinh; xét nghiệm sàng lọc trước sinh cho kết quả nguy cơ cao.

Bệnh phẩm là 10ml dịch ối được chọc hút dưới hướng dẫn của siêu âm khi thai 16 – 22 tuần. Bệnh phẩm đạt chất lượng khi quan sát bằng mắt thường không thấy lẫn máu được chia thành 2 phần: 8ml dùng để lập karyotype tế bào ối và 2ml dùng để ly trích DNA thực hiện kỹ thuật QF-PCR.

Nuôi cấy tế bào ối và lập bộ karyotype

Tế bào dịch ối được nuôi cấy trong môi trường Amniomax có bổ sung FBS (Gibco, Life Technologies, Mỹ) ở điều kiện 37°C, 5% CO₂. Sau 7 – 10 ngày, thu hoạch tế bào bằng Demecolcine, trypsin EDTA 1/125 và NaCl 0,9%. Tế bào sau thu hoạch được cố định bằng Carnoy, chuẩn bị tiêu bản, nhuộm GTG-banding và phân tích bằng hệ thống Metasystem sử dụng phần mềm Ikaros (MetaSystems, Đức). Ít nhất 20 cụm NST được phân tích và xếp bộ karyotype theo hướng dẫn của Hiệp hội Di truyền tế bào lâm sàng (2,16). Sau 14 – 21 ngày, kết quả karyotype được ghi nhận và so sánh với kết quả từ QF-PCR.

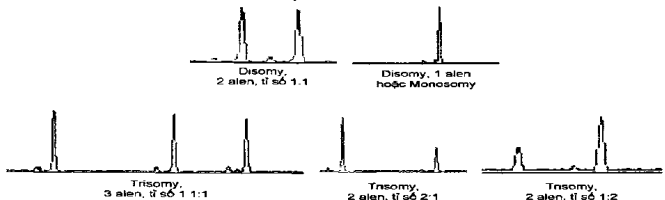
Ly trích DNA và thực hiện QF-PCR

DNA được ly trích từ tế bào dịch ối bằng phương pháp cột lọc sử dụng QIAamp DNA mini blood kit (Qiagen GmbH, Hilden, Đức). DNA sau cô lập được đánh giá nồng độ và độ tinh sạch bằng máy Biophotometer Plus (Eppendorf GmbH, Hamburg, Đức) với bước

sóng 260/280nm và lưu trữ ở 4°C trước khi thực hiện QF-PCR và ở -30°C sau khi phân tích kết quả⁽¹⁵⁾.

Kỹ thuật QF-PCR dựa trên nguyên lý ở giai đoạn sớm của phản ứng PCR, khi đó, khối lượng DNA tạo ra từ 2 alen của một locus STR sẽ tỉ lệ thuận với khối lượng DNA đích trong mẫu ban đầu. Vì thế, sản phẩm STR đặc hiệu NST khi phân tách đoạn sẽ cho 2 đỉnh huỳnh

quang với tỉ số chiều cao giữa 2 đỉnh là 1:1 trong trường hợp dị hợp tử và chỉ cho 1 đỉnh huỳnh quang duy nhất trong trường hợp đồng hợp tử. Đối với các trường hợp trisomy, 3 NST sẽ biểu hiện 3 đỉnh huỳnh quang với tỉ số là 1:1:1 (trisomy 3 alen) hoặc chỉ biểu hiện 2 đỉnh với tỉ số là 2:1 hoặc 1:2 (trisomy 2 alen) (hình 1)^(6,13).



Hình 1. Biểu diễn kết quả phân tích số lượng NST bằng kỹ thuật QF-PCR.

Xét nghiệm QF-PCR được thực hiện bằng kit Devyser Complete (Devyser AB, Stockholm, Thụy Điển). Mỗi mẫu được khảo sát cùng một lúc 32 locus STR đặc hiệu cho NST 13, 18, 21, X, Y chứa trong 2 hỗn hợp PCR (bảng 1)⁽⁶⁾. Sự hiện diện của locus 18D trong cả 2 hỗn hợp PCR nhằm kiểm tra khả năng nhầm lẫn mẫu. Locus T1 và T3 được dùng để so sánh số lượng NST X với NST 7 và NST 3.

Phản ứng QF-PCR bao gồm 20ul hỗn hợp PCR và 5ul DNA (3ng/ul) chứa trong ống 0,2ml PCR thành mỏng sử dụng máy luân nhiệt Master Cycler Pro (Eppendorf GmbH, Hamburg, Đức) với chu trình luân nhiệt: 95°C x 15 phút; 94°C x 30 giây + 58°C x 90 giây +

72°C x 30 phút trong 26 chu kỳ; 72°C x 30 phút. Sản phẩm PCR được lưu trữ ở 4°C.

1,5ul sản phẩm PCR được trộn với 14,5 ul Hi-Di Formamide, 0,5 ul GeneScan 600 Liz Size Standard và được điện di phân tách đoạn bằng hệ thống giải trình tự ABI 3500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Mỹ). Kết quả điện di được phân tích bằng phần mềm GeneMarker 1.85 (SoftGenetics, State College, PA, Mỹ) dựa vào tiêu chuẩn xác định số lượng NST của Hướng dẫn thực hành tốt QF-PCR của Hội di truyền tế bào lâm sàng (ACCG) và Hội di truyền phân tử lâm sàng (CMGS) (3). Sau 48 giờ thực hiện, kết quả QF-PCR của tất cả các mẫu nghiên cứu sẽ được so sánh với kết quả karyotype tương ứng.

Bảng 1. Các locus đặc hiệu NST trong xét nghiệm QF-PCR sử dụng kit Devyser Complete.

Kí hiệu	Locus	Vị trí trên NST	Độ dài (bp)	Màu	Kí hiệu	Locus	Vị trí trên NST	Độ dài (bp)	Màu
Hỗn hợp PCR 1 (14 locus)					21G	D21S1446	21q22.3	430-490	Luc
13A	D13S742	13q12.12	232-327	Luc	21H	D21S1442	21q21.3	362-420	Vàng
13B	D13S634	13q21.32	365-435	Xanh	21J	D21S2055	21q22.2	385-485	Xanh
13C	D13S628	13q31.3	425-474	Vàng	X1	DXS1187	Xq26.2	120-170	Luc
13D	D13S305	13q13.3	435-505	Luc	X2	DXS981	Xq13.1	262-300	Luc

Kí hiệu	Locus	Vị trí trên NST	Độ dài (bp)	Màu	Kí hiệu	Locus	Vị trí trên NST	Độ dài (bp)	Màu
13K	D13S1492	13q21.1	113-185	Vàng	X3	XHPRT	Xq26.2-26.3	265-308	Vàng
18B	D18S978	18q12.3	195-230	Vàng	X9	DXS2390	Xq27.1-q27.2	312-357	Vàng
18C	D18S535	18q12.3	300-350	Xanh	XY2	DXYS267	Xq21.31	175-217	Xanh
18D*	D18S386	18q22.1	338-430	Lục			Yp11.31		
18M	GATA178F11	18p11.32	350-410	Vàng	XY3	DXYS218	Xp22.33	215-260	Lục
18P	D18S1364	18q22.1	130-205	Lục			Yp11.32		
21A	D21S1435	21q21.3	150-208	Xanh	AMEL	AMELX	Xp22.2	X = 104	Xanh
21B	D21S11	21q21.1	215-290	Xanh		AMELY	Yp11.2	Y = 110	
21C	D21S1411	21q22.3	245-345	Vàng	ZFYX	ZFY	Yp11.31	151-160	Vàng
21D	D21S1444	21q22.13	440-495	Xanh		ZFX	Xp22.11		
Hỗn hợp PCR 2 (19 locus)					SRY	SRY	Yp11.31	233	Xanh
13E	D13S800	13q22.1	180-230	Vàng	T1		7q34	7 = 179	Lục
13F	D13S252	13q12.2	255-320	Xanh			Xq13	X = 200	
18D*	D18S386	18q22.1	338-430	Lục	T3		3p24.2	3 = 133	Xanh
18G	D18S1002	18q11.2	325-380	Xanh			Xq21.1	X = 137	
18J	D18S976	18p11.31	430-487	Vàng	18D* để kiểm tra nhằm lần mẫu giữa 2 hỗn hợp PCR				

KẾT QUẢ

Từ tháng 9/2010 đến tháng 12/2012, có tổng cộng 400 mẫu dịch ối của 398 thai phụ đơn thai và 1 trường hợp song thai được chọn làm bệnh phẩm nghiên cứu. Tuổi thai khi chọc ối là 16 – 25 tuần, trong đó, các trường hợp thai 16 – 18 tuần chiếm 68,5% (274/400). Tuổi của thai phụ được chọc ối là 19 – 46 tuổi, trung bình là 31,5 tuổi, tuổi từ 35 trở lên chiếm 33,1% (132/399). Nơi cư ngụ của thai phụ trải khắp 37 tỉnh - thành phố, trong đó, thành phố Hồ Chí Minh chiếm 36,3%.

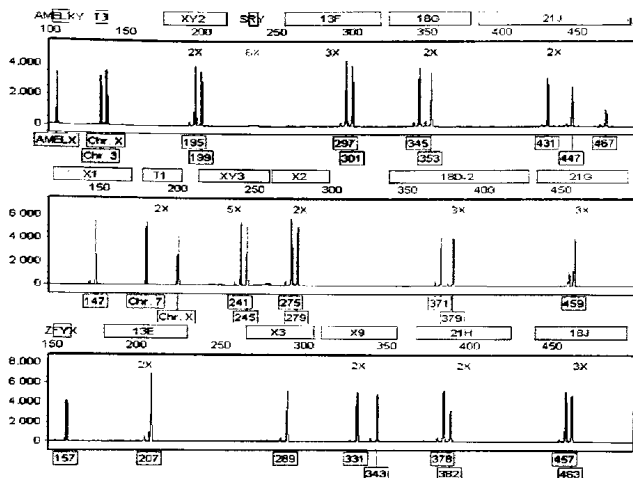
Tất cả các thai phụ được chỉ định chọc ối để CETS là do thai có nguy cơ cao rối loạn NST. Trong đó, các thai kỳ có nguy cơ cao $\geq 1/250$ được phát hiện qua xét nghiệm sàng lọc quý 1 (double test hoặc combined test) hoặc qua xét nghiệm sàng lọc quý 2 (triple test) chiếm tỉ lệ 54,8% (219/400). Các trường hợp thai kỳ có bất thường hình thái học hoặc có dấu hiệu lệch bội NST trên siêu âm như khe môi, chẻ vòm, bất sản xương mũi hoặc xương mũi ngắn, dị tật tim, dẫn não thất, chân khoèo, nang vùng cổ, thoát vị rốn, xương đùi ngắn, đa ối chiếm 36,5% (146/400).

Trong 400 mẫu nghiên cứu, có 396 mẫu ghi nhận được kết quả QF-PCR trong vòng 48 giờ, 2 mẫu ghi nhận kết quả sau 2 tuần vì phải thực

hiện thêm công đoạn nuôi cấy tế bào ối để loại trừ nhiễm máu mẹ và 2 mẫu không thể kết luận được số lượng NST. Có 36/400 trường hợp (9,0%) cho kết quả bất thường với trisomy 21 chiếm 2,8% (11/400), trisomy 18 chiếm 2,5% (10/400), trisomy 13 chiếm 1,5% (6/400) và monosomy X chiếm 0,5% (2/400) (bảng 2).

Hai mẫu cho kết quả QF-PCR bất thường nhưng không thể kết luận được số lượng NST gồm 1 trường hợp không kết luận được số lượng NST 21 và 1 trường hợp không kết luận được số lượng NST X (bảng 2). Khi đối chiếu với kết quả karyotype, trường hợp thứ nhất có dạng trisomy 21 thể khảm 46,XX/47,XX,+21 với tỉ số 3:1. Trường hợp thứ hai không thể thực hiện kỹ thuật karyotype do mẫu bị nhiễm nấm trong quá trình nuôi cấy tế bào ối nên kỹ thuật FISH được sử dụng để khảo sát với kết quả là monosomy X thể khảm 46,XX/45,X0 với tỉ số là 2:3 (hình 2).

Mức độ tương hợp giữa kết quả QF-PCR và kết quả karyotype đạt 100%. Tuy nhiên, QF-PCR không thể biểu hiện bản chất cấu trúc NST của 2 trường hợp trisomy gồm 1 trường hợp trisomy 18 do NST 18 bị nhân đôi (46,XX,dup(18)) và 1 trường hợp trisomy 13 do chuyển đoạn hòa nhập tâm (46,XX,-13,+t(13;13)) (bảng 2).



Hình 2. Kết quả QF-PCR của trường hợp trisomy 21 thể khảm 46,XX/47,XX,+21. Các locus 21G, 21J, 21H có dạng 3 alien nhưng không đạt tỉ số 1:1.1; 1:2 hoặc 2:1.

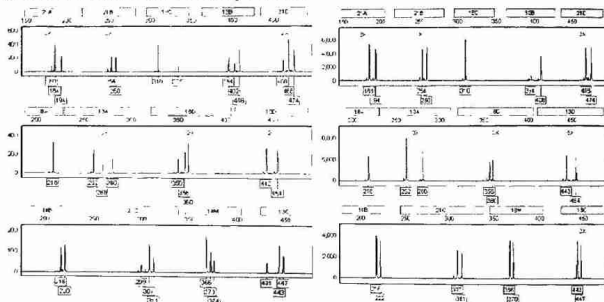
Bảng 2. Sự tương hợp giữa các kết quả xét nghiệm QF-PCR và karyotype.

	Karyotype		QF-PCR		Tỉ lệ % tương hợp
	Kết quả	Số lượng	Kết quả	Số lượng	
Bình thường		364		364	100
	46,XY	201	Disomy,XY	201	
	46,XX	163	Disomy,XX	163	
Bất thường		36		36	100
	Trisomy 13	2	T13,XY	2	
	47,XX,+13	3	T13,XX	4	
	46,XX-13,+(13,13)	1			
	Trisomy 18	5	T18,XY	5	
Trisomy 21	47,XY,+18	4	T18,XX	5	
	46 XX, dup(18)	1			
	47,XY,+21	8	T21,XY	8	
	47,XX,+21	3	T21,XX	3	
	Monosomy X	2	Monosomy X	2	
Trisomy X	47,XXX	1	XXX	1	
Klinefelter	47,XXY	1	XXY	1	
Triploidy	69 XXX	2	Triploidy, XXX	2	

	Karyotype		QF-PCR		Tỉ lệ % tương hợp
	Kết quả	Số lượng	Kết quả	Số lượng	
	69,XXY	1	Triploidy, XXY	1	
Khảm	FISH 46,XX/45,XO, tỉ lệ 2:3	1	Không kết luận	2	
	46,XX/47,XX,+21, tỉ lệ 3:1	1			
Tổng		400		400	

Có 2 mẫu bị ngoại nhiễm DNA mẹ được phát hiện trên QF-PCR với hình ảnh các đỉnh có độ cao không đều nhau. Tổng độ cao của 2 tín hiệu thấp bằng với tín hiệu cao ở tất cả các locus có 3 đỉnh. Sau 2 tuần nuôi cấy tế bào để

để loại trừ mẫu mẹ, các mẫu tế bào này được thu hoạch, ly trích DNA và thực hiện lại xét nghiệm QF-PCR thì hình ảnh nhiễm DNA mẹ không còn (hình 3).



Hình 3. Kết quả QF-PCR mẫu dịch ối nhiễm DNA mẹ trước (trái) và sau (phải) nuôi cấy tế bào để loại trừ mẫu mẹ.

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, đa số thai phụ được chọc ối chẩn đoán rối loạn NST có độ tuổi dưới 35 tuổi do đây là lứa tuổi mang thai phổ biến ở Việt Nam. Những thai phụ này không chỉ cư ngụ tại thành phố Hồ Chí Minh mà ở khắp cả nước vì bệnh viện Từ Dũ là bệnh viện tuyến cuối về phụ sản, phục vụ cho nhân dân cả nước.

Xét nghiệm sinh hóa và siêu âm là hai phương tiện không xâm lấn rất hữu ích trong việc sàng lọc bất thường NST của thai nhằm phát hiện những trường hợp thai cần được chọc ối khảo sát bộ NST để có kết quả chẩn đoán xác định. Vì vậy, hầu hết các trường hợp

thai phụ được chỉ định chọc ối là do xét nghiệm sàng lọc quý 1 hoặc quý 2 của thai kỳ cho kết quả nguy cơ cao $\geq 1/250$ hoặc do có bất thường hình thái học, có dấu hiệu lệch bội NST trên siêu âm.

Các rối loạn số lượng NST thường tăng theo tuổi của thai phụ và do lỗi không phân ly NST trong quá trình tạo giao tử dẫn đến thừa hoặc thiếu một NST. Những rối loạn này thường ở dạng thuần nhất hoặc đôi khi ở dạng khảm⁽⁹⁾. 400 mẫu bệnh phẩm dịch ối trong nghiên cứu này là một cỡ mẫu đủ lớn để các loại bất thường NST hiếm như trao đổi đoạn, nhân đoạn, thể khảm có thể xuất hiện.

Việc so sánh kết quả từ kỹ thuật QF-PCR với kết quả từ kỹ thuật tiêu chuẩn vàng karyotype giúp đánh giá được các ưu điểm của QF-PCR: là phương pháp chẩn đoán nhanh, đơn giản, chính xác; phát hiện được hầu hết các lệch bội NST phổ biến; khả năng trả lời được kết quả cho bệnh nhân đạt đến 99,5% (398/400), cao hơn so với xét nghiệm karyotype dịch ối; không có trường hợp âm tính giả hoặc dương tính giả nào xảy ra. Chỉ trong vòng 48 giờ, QF-PCR đã cho ra được kết quả CETS các rối loạn NST của 396 mẫu dịch ối không lẫn máu mẹ, còn 2 mẫu bị ngoại nhiễm DNA mẹ phải mất 2 tuần mới ghi nhận được kết quả. Như vậy, khả năng trả lời kết quả nhanh của kỹ thuật QF-PCR sẽ góp phần làm giảm đáng kể sự lo âu cho thai phụ và gia đình⁽⁹⁾.

Bảng 3. So sánh kết quả từ QF-PCR với kết quả từ karyotype.

Trường hợp 1				Trường hợp 2				
		Karyotype		Tổng			Tổng	
		Lệch bội	Bình thường		Karyotype			
		Lệch bội	Bình thường		Lệch bội	Bình thường		
QF-PCR	Lệch bội	34	0	34	Lệch bội	36	0	36
	Bình thường	2	364	366	Bình thường	0	364	364
Tổng		36	364	400		36	364	400

Dù được xem là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán rối loạn NST, xét nghiệm karyotype vẫn có tỉ lệ chẩn đoán sai 0,6%, trong đó, chủ yếu là sai sót về NST giới tính do nhiễm tế bào mẹ hoặc do phân tích sai (đôi khi bỏ sót trisomy hoặc monosomy). Tỉ lệ không thể trả lời được kết quả do nuôi cấy tế bào bị thất bại từ 0,4% đến 1,4%^(2,4,10,11,12). Ngoài ra, karyotype không thể phát hiện được các bất thường cấu trúc ở mức độ nhỏ < 4Mb. Trong khi đó, đối với hầu hết các thai phụ được chọn lọc vì thai có nguy cơ cao bị lệch bội NST, các bất thường cấu trúc chỉ được phát hiện một cách tình cờ vì chúng không tăng theo tuổi của mẹ và cũng không phải là đích nhắm đến của chương trình sàng lọc⁽¹³⁾. Hơn nữa, thời gian để nuôi cấy tế

Trong 400 mẫu bệnh phẩm, có 2 mẫu có kiểu gen thể khảm kỹ thuật QF-PCR không thể kết luận được loại bất thường. Trường hợp 1: nếu xem 2 mẫu không kết luận được là trường hợp bị bỏ sót thì QF-PCR có độ nhạy là 94,4% (34/36), độ đặc hiệu là 100% (364/364), giá trị tiên đoán dương là 100% (34/34) và giá trị tiên đoán âm là 99,5% (364/366). Trường hợp 2: nếu xếp 2 mẫu không thể kết luận này vào nhóm lệch bội (vì thực tế 2 mẫu này có tín hiệu QF-PCR không bình thường) thì QF-PCR có độ nhạy là 100% (36/36), độ đặc hiệu là 100% (364/364), giá trị tiên đoán dương là 100% (36/36), giá trị tiên đoán âm là 100% (364/364) (bảng 3). Do đó, kết quả của nghiên cứu này phù hợp với kết quả của các báo cáo trước đây^(2,10).

bào và lập bộ karyotype thường mất từ 10 – 21 ngày nên sẽ gây ra gánh nặng tâm lý cho thai phụ và làm cho việc chấm dứt những thai kỳ bất thường bị muộn hơn⁽⁷⁾.

Các locus STR có tính chất đặc trưng cho mỗi cá thể. Vì vậy, nếu mẫu dịch ối của thai bị nhiễm DNA từ mẹ thì trên kết quả QF-PCR sẽ có sự hiện diện của các tín hiệu phụ với tỉ lệ không phù hợp. Đây là ưu điểm vượt trội của kỹ thuật QF-PCR so với các phương pháp chẩn đoán lệch bội khác như karyotype, FISH, MLPA, đặc biệt đối với trường hợp thai nữ⁽⁶⁾.

Ngoài ra, trong nghiên cứu này có 1 trường hợp song thai 2 buồng ối, không rõ số lượng nhau. Dịch ối của 2 buồng ối được chọc hút và thực hiện xét nghiệm riêng biệt. Kết quả QF-

PCR cho thấy 2 thai này có alen giống nhau ở tất cả các locus khảo sát. Vì thế, có thể kết luận đây là trường hợp song thai cùng hợp tử. Trong khi đó, karyotype không thể kết luận được là cùng hợp tử dù kết quả của 2 thai này là 46,XX. Như vậy, khả năng đánh giá những trường hợp đa thai là một hay nhiều hợp tử là một ưu điểm khác của kỹ thuật QF-PCR, giúp loại trừ nhầm lẫn giữa các mẫu, theo dõi và tiên lượng thai trên lâm sàng.

KẾT LUẬN

QF-PCR là kỹ thuật chẩn đoán nhanh, đáng tin cậy trong CDTS rối loạn số lượng NST nhưng hạn chế trong chẩn đoán thể khảm và bất thường cấu trúc. Trong xu hướng phát triển của các phương pháp chẩn đoán trước sinh hiện nay, kỹ thuật QF-PCR giữ một vai trò quan trọng và có thể thay thế cho các kỹ thuật chẩn đoán khác. Các trường hợp có tiền sử rối loạn cấu trúc NST cần được khảo sát thêm bằng phương pháp karyotype.

Cảm ơn: Sở Khoa học & Công nghệ TP.HCM đã hỗ trợ một phần kinh phí cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adenolfi M, Perl B & Sherlock J (1997). Rapid detection of aneuploidies by microsatellite and the quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Prenat Diagn*, 17(13), 1299-1311.
- Association for Clinical Cytogenetics (2009). Professional Guidelines for Clinical Cytogenetics General Best Practice Guidelines www.cytogenetics.org.uk.
- Association for Clinical Cytogenetics and Clinical Molecular Genetics Society (2012). QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy best practice guidelines v3.01. www.cmgs.org.
- Association of Clinical Cytogeneticists (1990). National external quality assessment scheme in clinical cytogenetics 1988/89. Association for Clinical Cytogeneticists, UK, 9-21.
- Cirigliano V, Voglino G, Canadas MP, Marongiu A, Ejarque M, Ordonez E, et al. (2004). Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-

- PCR. *Assessment on 18,000 consecutive clinical samples*. *Mol Hum Reprod*, 10(11), 839-846.
- Cirigliano V, Voglino G, Marongiu A, Canadas P, Ordonez E, Lloveras E, et al. (2006). Rapid prenatal diagnosis by QF-PCR: evaluation of 30,000 consecutive clinical samples and future applications. *Ann NY Acad Sci*, 1075, 288-298.
 - Cirigliano V, Voglino G, Ordonez E, Marongiu A, Paz Canadas M, Ejarque M, et al. (2009). Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagn*, 29(1), 40-49.
 - Devysse. (2012). Devyser Complete v2 ART. No. 8-A011.2 Instruction for Use: Stockholm.
 - Ferguson-Smith MA & Yates JR (1984). Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative European study on 52 965 amniocenteses. *Prenat Diagn*, 4 Spec No, 5-44.
 - Garver KL, Marchese SL & Boas EG (1976). Amniotic fluid culture failure: possible role of syringes. *New England Journal of Medicine*, 295, 286-290.
 - Griffiths MJ, Miller JR & Stibbe HM (1996). A false positive diagnosis of Turner syndrome by amniocentesis. *Prenatal Diagnosis*, 16(5), 463-466.
 - Hsu LYF (1992). Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis (3rd ed.). Johns Hopkins University Press Baltimore.
 - Marr N, Ogilvie C, Mountford R & McNulty C (2007). QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy best practice guidelines. Association for Clinical Cytogenetics and Clinical Molecular Genetics Society.
 - Nicolini U, Lalatta F, Natacci F, Curcio C & But T. H. (2004). The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration. *Hum Reprod Update*, 10(6), 541-548.
 - Quagen (2010). QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook (3rd ed.).
 - Rooney DE (2001). Human cytogenetics constitutional analysis. A practical approach (3rd ed.). Oxford University Press: Oxford.
 - Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rossella F, Terzoli GL, Ferrari M, et al. (1983). Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet*, 63(4), 349-357.
 - Warburton D (1991). De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *Am J Hum Genet*, 49(5), 995-1013.

Ngày nhận bài: 10/05/2013

Ngày phản biện đánh giá bài báo: 18/05/2013

Ngày bài báo được đăng: 27/09/2013