

# VALUE OF CFFDNA CONCENTRATIONS IN NIPT FOR PRENATAL SCREENING OF DOWN SYNDROME

Vu Thi Thuy Chi<sup>1,\*</sup>, Trinh Thi Que<sup>1</sup>, Nguyen Ba Son<sup>1</sup>, Nguyen Dang Thu Phuong<sup>1</sup>,  
Hoang Thi Ngoc Lan<sup>2</sup>, Luong Thi Lan Anh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MEDLATEC general Hospital - 42-44 Nghia Dung, Phuc Xa, Ba Dinh, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Hanoi Medical University - No.1 Ton That Tung, Dong Da, Hanoi, Vietnam

Received 09/12/2022

Revised 12/01/2023; Accepted 27/02/2023

## ABSTRACT

**Research objectives:** Analyzing the value of cffDNA levels in non-invasive prenatal testing (NIPT) for Down syndrome.

**Research method and duration:** A retrospective cross-sectional descriptive study on 17,451 pregnant women who received NIPT from October 2020 to July 2022.

**Results and conclusions:** There was a positive correlation between the cffDNA concentration and the gestational week, but negatively correlated with the age of the pregnant woman in the study. Among the group of pregnant women with positive NIPT results, there was a strong positive correlation between the cffDNA concentration and z-score.

*Keywords:* NIPT, cffDNA, trisomy 21.

---

\*Corresponding author

Email address: drvuthithuychi@gmail.com

Phone number: (+84) 987 283 229

<https://doi.org/10.52163/yhc.v64i2.630>



# PHÂN TÍCH GIÁ TRỊ CỦA NỒNG ĐỘ cffDNA TRONG XÉT NGHIỆM NIPT SÀNG LỌC TRƯỚC SINH HỘI CHỨNG DOWN

Vũ Thị Thúy Chi<sup>1,\*</sup>, Trịnh Thị Quế<sup>1</sup>, Nguyễn Bá Sơn<sup>1</sup>, Nguyễn Đăng Thu Phương<sup>1</sup>,  
Hoàng Thị Ngọc Lan<sup>2</sup>, Lương Thị Lan Anh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Đa khoa Medlatec - Số 42-44 Nghĩa Dũng, Phúc Xá, Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài: 09 tháng 12 năm 2022

Chỉnh sửa ngày: 12 tháng 01 năm 2023; Ngày duyệt đăng: 27 tháng 02 năm 2023

## TÓM TẮT

**Mục tiêu nghiên cứu:** Phân tích giá trị của nồng độ cffDNA trong xét nghiệm NIPT sàng lọc trước sinh hội chứng Down.

**Phương pháp và thời gian nghiên cứu:** 17.451 thai phụ thực hiện xét nghiệm NIPT tại từ tháng 10/2020 đến tháng 07/2022. Nghiên cứu mô tả cắt ngang kết hợp hồi cứu.

**Kết quả và kết luận:** Nồng độ cffDNA có mối liên quan đồng biến với tuần thai nhưng có mối liên quan nghịch biến với tuổi của thai phụ. Trong nhóm thai phụ có kết quả xét nghiệm NIPT dương tính, có mối liên quan đồng biến chặt chẽ giữa nồng độ cffDNA và chỉ số z-score.

*Từ khóa:* NIPT, cffDNA, trisomy 21.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Down là một rối loạn di truyền do thừa một phần hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể số 21. Trẻ mắc hội chứng Down có những bất thường về mặt hình thái cũng như các chức năng của các cơ quan trong cơ thể.

Hiện nay, với sự phát triển mạnh mẽ của y học, tỷ lệ trẻ mắc hội chứng Down ngày càng giảm. Các xét nghiệm sàng lọc trước sinh xác định được nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down với tỷ lệ dương tính giả khoảng 5% và tỷ lệ phát hiện bệnh dao động trong khoảng 50-95% tùy theo phương pháp sàng lọc được áp dụng. Tuy nhiên, các xét nghiệm sàng lọc trước sinh có kết quả nguy cơ cao với hội chứng Down thì đều cần phải được tư vấn

thực hiện thủ thuật xâm lấn chọc hút dịch ối để làm xét nghiệm chẩn đoán trước sinh. Thủ thuật xâm lấn có nguy cơ gây nhiễm trùng dịch ối, rỉ ối, chảy máu, nhiễm trùng từ mẹ sang con hoặc gây sảy thai [1], [3].

Những năm gần đây, xét nghiệm sàng lọc trước sinh hội chứng Down từ DNA tự do của thai trong huyết thanh mẹ đang được ứng dụng ngày càng phổ biến. Kỹ thuật được gọi với tên xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT). Trên thế giới và tại Việt Nam đã có nghiên cứu về giá trị của xét nghiệm NIPT đối với phát hiện thai mang hội chứng Down, độ nhạy, độ đặc hiệu > 99%, giá trị tiên đoán dương tính 97,9%, tỷ lệ dương tính giả < 1% [4]. Nhưng hầu hết các nghiên cứu đều thực hiện trên nhóm đối tượng thai phụ có

\*Tác giả liên hệ

Email: drvuthithuychi@gmail.com

Điện thoại: (+84) 987 283 229

<https://doi.org/10.52163/yhc.v64i2.630>

một trong những yếu tố nguy cơ cao mang thai mắc hội chứng Down.

Tại Việt Nam chưa có báo cáo về giá trị NIPT cũng như giá trị nồng độ cfDNA tiến hành chung trong cộng đồng. Giá trị nồng độ cfDNA có liên quan với tỷ lệ phát hiện thai mắc hội chứng Down hay không? Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: phân tích giá trị của nồng độ cfDNA trong xét nghiệm NIPT.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

17.451 kết quả xét nghiệm NIPT đã được thực hiện tại Trung tâm Xét nghiệm- Bệnh viện Đa khoa MEDLATEC từ tháng 10/2020 đến tháng 07/2022. Tiêu chuẩn lựa chọn các kết quả có tuần thai từ 8 tuần tuổi, các thai phụ đều được xác định là mang đơn thai và không có song thai tiêu biến, các thai phụ có kết quả NIPT dương tính trisomy 21 được chọc ối và chẩn đoán trước sinh hội chứng Down.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang kết hợp hồi cứu.

### 2.3. Tiến trình nghiên cứu:

- Thu mẫu và tiền xử lý mẫu: mẫu máu ngoại vi của thai phụ được thu 10 mL vào ống có chất chống đông (ống EDTA, ống lưu trữ huyết thanh CWBIO hoặc ống Streck).

- Tách chiết DNA và chuẩn bị thư viện PCR bằng bộ

hóa chất MGIEasy Cell-free DNA Library Prep Set.

- Trộn mẫu và chuẩn bị DNA cho giải trình tự song song số lượng lớn trên toàn bộ hệ gen (DNB).

- Giải trình tự gen bằng bộ hóa chất Universal Sequencing Reaction Set Kit G50 SM FCL.

- Phân tích kết quả: Số liệu được thống kê theo tuần thai, tuổi thai phụ, nồng độ cfDNA là tỷ lệ DNA tự do của thai có trong tổng số DNA tự do trong huyết thanh mẹ (FF: fetal fraction), các số liệu được phân tích mối tương quan giữa FF với tuổi thai phụ, tuần thai, kết quả dương tính và âm tính với trisomy 21, với chỉ số z-score là chỉ số đánh giá nguy cơ thai lệch bội đo bằng độ lệch chuẩn từ một điểm dữ liệu bất kỳ đến giá trị trung bình của tập hợp dữ liệu.

- Xử lý và phân tích số liệu: Số liệu của nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

### 2.4. Đạo đức nghiên cứu

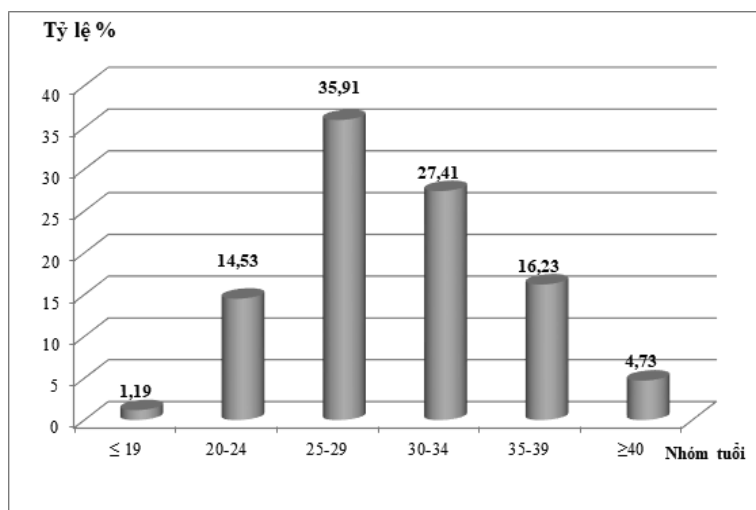
Các số liệu và thông tin nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan đã được xác nhận và chấp thuận bởi cơ sở nghiên cứu. Những thông tin về bệnh nhân được giữ bí mật và chỉ phục vụ công tác nghiên cứu.

## 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng

#### 3.1.1. Phân bố theo tuổi thai phụ trong nghiên cứu

**Biểu đồ 1. Phân bố tuổi thai phụ (tuổi trung bình:  $29,88 \pm 5,40$  tuổi, min = 14 tuổi, max = 51 tuổi)**

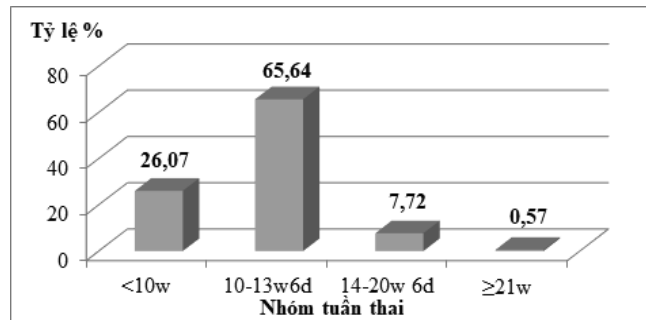


Nhận xét: Độ tuổi thai phụ từ 14-51 tuổi, trung bình là  $29,88 \pm 5,4$  tuổi. Trong đó nhóm từ 25-29 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 35,91%, tiếp theo là nhóm từ 30 - 34 tuổi chiếm tỷ lệ 27,41%, nhóm từ 35-39 tuổi chiếm 16,23%,

nhóm tuổi từ 20-24 là 14,53%,  $\geq 40$  tuổi chiếm 4,73%, nhóm tuổi  $\leq 19$  tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất là 1,19%.

### 3.1.2 Phân bố tuần thai

**Biểu đồ 2. Phân bố tuần thai (trung bình:  $11,32 \pm 2,17$  tuần (95%CI: 7,07 – 15,57, min=8 tuần, max=31 tuần)**



Chú thích: w (week): tuần, d (day): ngày.

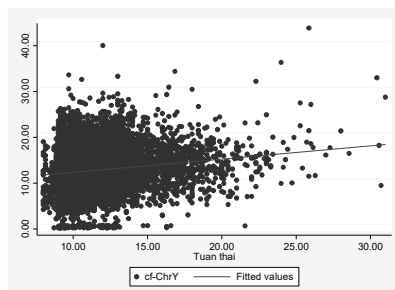
Nhận xét: Thai phụ có tuần thai từ 8-31 tuần, trung bình là  $11,32 \pm 2,17$  tuần. Trong đó, tuần thai từ 10-13 tuần 6 ngày chiếm tỷ lệ cao nhất là 65,64%, tuần thai <10 tuần chiếm 26,07%, tuần thai từ 14-20 tuần 6 ngày chiếm

7,42%, tuần thai  $\geq 21$  tuần chiếm tỷ lệ thấp nhất 0,57%.

### 3.2. Phân tích giá trị của nồng độ cfDNA trong xét nghiệm NIPT

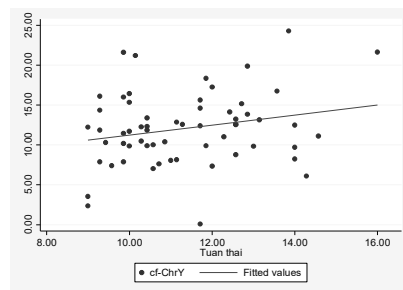
#### 3.2.1. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA với tuần thai

**Biểu đồ 3. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA với tuần thai**



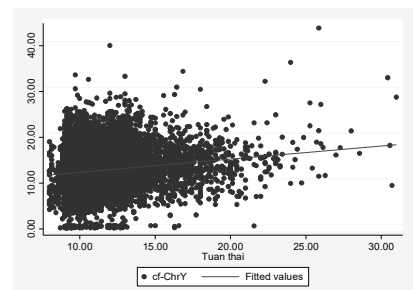
$r=0,1539, p < 0,05$

**A**



$r=0,2272, p > 0,05$

**B**



$r=0,1537, p < 0,05$

**C**

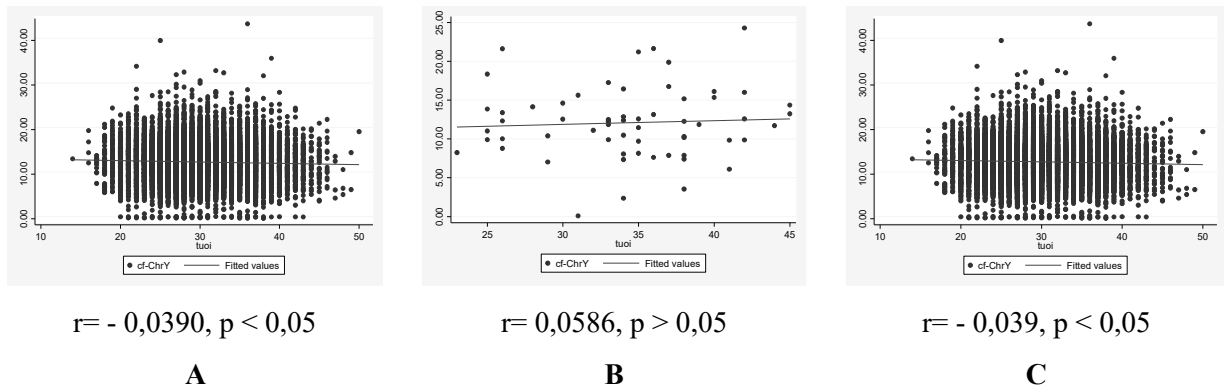
A. Nồng độ cfDNA với tuần thai của 17.451 thai phụ; B. Nồng độ cfDNA với tuần thai của thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21; C. Nồng độ cfDNA với tuần thai của thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21.

Nhận xét: Có mối tương quan đồng biến giữa nồng độ cfDNA với tuần thai của thai nhi, tuần thai càng cao

thì nồng độ cfDNA càng cao. Trong tổng chung 17.415 thai phụ và nhóm thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21, mối tương quan có ý nghĩa thống kê (với  $p < 0,05$ ), chỉ ở mức tương quan yếu (do r lần lượt là 0,1539 và 0,1537). Với nhóm thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21, mối tương quan cũng ở mức yếu, nhưng không có ý nghĩa thống kê (do  $p > 0,05$ ).

### 3.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA và tuổi thai phụ

**Biểu đồ 4. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA với tuổi thai phụ**



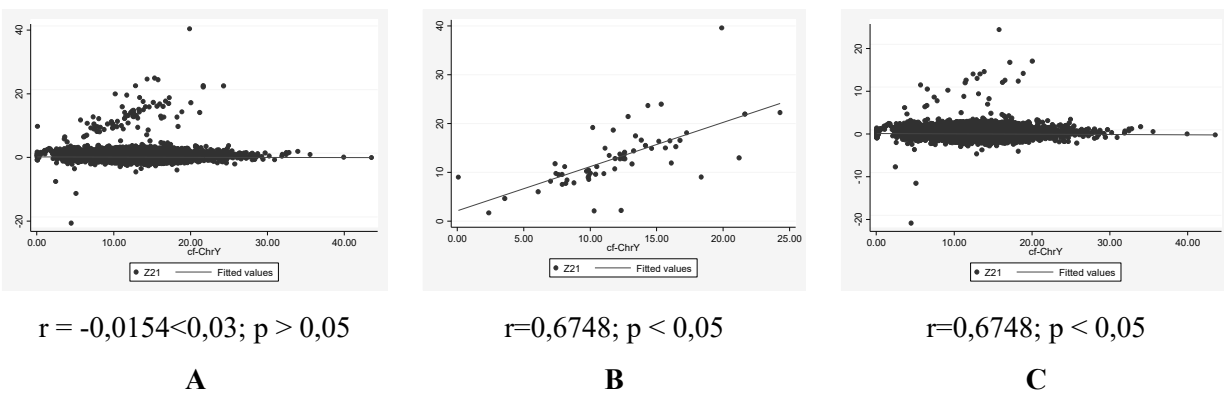
A. Nồng độ cfDNA với tuổi thai phụ của 17.451 thai phụ; B. Nồng độ cfDNA với tuổi thai phụ của thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21; C. Nồng độ cfDNA với tuổi thai phụ của thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21.

Nhận xét: Trong tổng chung 17.415 thai phụ và nhóm thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21, nồng độ cfDNA tỷ lệ nghịch với tuổi thai phụ: nồng độ cfDNA giảm khi tuổi thai phụ tăng, mối tương quan

có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), nhưng chỉ ở mức độ rất yếu. Ngược lại, riêng trong nhóm thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21, nồng độ cfDNA tỷ lệ thuận với tuổi thai phụ: nồng độ cfDNA tăng khi tuổi thai phụ tăng, tuy nhiên, mối tương quan này không ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) và cũng chỉ ở mức độ rất yếu.

### 3.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA và chỉ số z-score trisomy 21

**Biểu đồ 5. Mối tương quan giữa nồng độ cfDNA và chỉ số z-score trisomy 21**



A. Nồng độ cfDNA với chỉ số z-score của 17.451 thai phụ; B. Nồng độ cfDNA với chỉ số z-score của thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21; C. Nồng độ cfDNA với chỉ số z-score của thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21.

Nhận xét: Trong tổng chung 17.415 thai phụ và nhóm thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21, có mối tương quan nghịch biến giữa nồng độ cfDNA với

chỉ số z-score: chỉ số z-score có mối tương quan rất yếu với nồng độ cfDNA, mối tương quan này không có ý nghĩa thống kê. Ngược lại, trong nhóm thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21, nồng độ cfDNA tỷ lệ thuận với chỉ số z-score: chỉ số z-score tăng khi nồng độ cfDNA tăng, chỉ số z-score có mối tương quan chặt chẽ với nồng độ cfDNA ( $r = 0,6748$ ), mối tương quan này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

#### 4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 17.451 thai phụ làm xét nghiệm NIPT. Kết quả cho thấy, tuổi của thai phụ dao động từ 14-51 tuổi, trung bình là  $29,88 \pm 5,4$  tuổi. Trong đó, nhóm từ 25 - 29 tuổi, chiếm tỷ lệ cao nhất 35,91%; tiếp theo là nhóm từ 30 - 34 tuổi, chiếm tỷ lệ 27,41%; nhóm tuổi từ 35 - 39 tuổi chiếm 16,23%, nhóm từ 20-24 tuổi là 14,53%, nhóm  $\geq 40$  tuổi chiếm 4,73%, nhóm tuổi  $\leq 19$  tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất là 1,19%. Độ tuổi của đối tượng nghiên cứu của chúng tôi trẻ hơn so với nghiên cứu của Hoàng Hải Yến thực hiện vào năm 2020, tuổi trung bình là  $34,3 \pm 5,7$  tuổi, trong đó nhóm tuổi từ 35- 39 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 38,59%. Sự khác biệt này có thể lí giải vì nghiên cứu của Hoàng Hải Yến khảo sát trên nhóm thai phụ nguy cơ cao mang thai mắc hội chứng Down thì mới thực hiện xét nghiệm NIPT[2]. Còn với nghiên cứu này, thai phụ được chỉ định ngẫu nhiên nên tỉ lệ cao nhất ở nhóm thai phụ trẻ tuổi từ 25-29 tuổi, chính là lứa tuổi sinh sản phổ biến của nước ta hiện nay.

Tuần thai dao động từ 8-31 tuần tuổi, tuần thai trung bình là  $11,32 \pm 2,17$  tuần. Trong đó, tuần thai từ 10-13 tuần 6 ngày chiếm tỷ lệ cao nhất là 65,64%. Tuần thai thực hiện xét nghiệm NIPT trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn trong nghiên cứu của Hoàng Hải Yến, bởi tác giả chỉ ra tuần thai trung bình trong nghiên cứu là 15 - 16 tuần, tuần thai từ 14 - 20 tuần 6 ngày chiếm tỷ lệ cao nhất. Điều này cũng có thể lí giải do xét nghiệm NIPT dựa trên kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới đã phù hợp với khả năng chỉ trả của các thai phụ, và thời điểm làm sàng lọc có thể bắt đầu sớm từ tuần thứ 8 của thai kì nên xét nghiệm NIPT đã dần thay thế dần các phương pháp sàng lọc trước sinh truyền thống.

Có mối tương quan giữa phân bố nồng độ cffDNA với tuần thai. Với nhóm toàn bộ thai phụ và nhóm thai phụ chỉ có kết quả xét nghiệm NIPT dương tính với trisomy 21, tuần thai càng cao thì nồng độ cffDNA càng cao, mặc dù tương quan chỉ ở mức yếu: nhóm thai  $\geq 21$  tuần có chỉ số CffDNA là 16,29%. Thấp nhất là tuần thai  $<10$  tuần, với kết quả cffDNA là 12,43%. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hoàng Hải Yến: cho thấy nồng độ cffDNA có phân bố chuẩn và có xu hướng tăng dần theo tuần thai tương ứng [2]. Các nghiên cứu ở nước ngoài khác như: nghiên cứu của Dar và cộng sự (2014) [5], Pergament và cộng sự (2014) [6] cho thấy nồng độ cffDNA tăng theo tuần thai và sự khác biệt về nồng độ cffDNA là có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của

Wang và cộng sự năm 2013 cho thấy nồng độ cffDNA tăng lên trong suốt thời kỳ mang thai với mức tăng ban đầu là 0,1% mỗi tuần từ 10 - 20 tuần, sau tuần 21 tăng 1% mỗi tuần [7]. Nghiên cứu của Kinning và cộng sự năm 2015 báo cáo nồng độ cffDNA tăng rất chậm từ 12,5 - 20 tuần thai (0,083%/tuần) có ý nghĩa thống kê, trong khi lại tăng gấp 10 lần từ sau 20 tuần (0,821%/tuần) [8]. Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ cffDNA có xu hướng tăng dần theo tuần thai.

Với tuổi thai phụ, trong nhóm toàn bộ thai phụ và nhóm thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21, nồng độ cffDNA tỷ lệ nghịch với tuổi thai phụ: nồng độ cffDNA giảm khi tuổi thai phụ tăng, mối tương quan có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), nhưng chỉ ở mức độ rất yếu. Ngược lại, trong nhóm thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21, nồng độ cffDNA tỷ lệ thuận với tuổi thai phụ: nồng độ cffDNA tăng khi tuổi thai phụ tăng. Tuy nhiên, mối tương quan này không ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) và cũng chỉ ở mức độ rất yếu. Nhận định này tương đồng với kết quả của Hoàng Hải Yến (2022), cho thấy nồng độ cffDNA giảm đáng kể khi tuổi thai phụ tăng [2].

Về chỉ số z-score, trong toàn bộ thai phụ và nhóm thai phụ có kết quả NIPT âm tính với trisomy 21, có mối tương quan nghịch biến giữa nồng độ cffDNA với chỉ số z-score: chỉ số z-score có mối tương quan rất yếu với nồng độ cffDNA, mối tương quan này không có ý nghĩa thống kê. Ngược lại, trong nhóm thai phụ có kết quả NIPT dương tính với trisomy 21, nồng độ cffDNA tỷ lệ thuận với chỉ số z-score: chỉ số z-score tăng khi nồng độ cffDNA tăng, chỉ số z-score có mối tương quan chặt chẽ với nồng độ cffDNA ( $r = 0,6748$ ), mối tương quan này có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Điều này tương đồng với nhận định được đưa ra trước đó của Hoàng Hải Yến [2], nồng độ cffDNA có mối tương quan thuận với chỉ số z-score, khi nồng độ cffDNA tăng, chỉ số z-score của trisomy 21 tăng mạnh. Tuy nhiên, với nghiên cứu của chúng tôi, xu hướng này đã không quan sát thấy trên các mẫu âm tính với trisomy 21. Nồng độ cffDNA thấp dẫn đến chỉ số z-score thấp trong mẫu NIPT dương tính với trisomy 21. Với kết quả xét nghiệm NIPT dương tính với trisomy 21, đặc biệt là các trường hợp có nồng độ cffDNA thấp và điểm z-score ở ngưỡng nguy cơ trung bình, thì nhất thiết phải chỉ định thủ thuật xâm lấn để làm xét nghiệm lập karyotype để chẩn đoán xác định trisomy 21.

## 5. KẾT LUẬN

Có mối tương quan đồng biến giữa nồng độ cfDNA với tuần thai. Có mối tương quan nghịch biến giữa nồng độ cfDNA và tuổi thai phụ. Trong nhóm thai phụ có kết quả xét nghiệm NIPT dương tính, có mối liên quan đồng biến chặt chẽ giữa nồng độ cfDNA và chỉ số z-score trisomy 21.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được thực hiện thành công với sự hỗ trợ của Ban giám đốc Bệnh viện, các anh (chị) đồng nghiệp của Trung Tâm xét nghiệm - Bệnh viện đa khoa MEDLATEC và Ban giám hiệu, các Thầy (Cô) tại Bộ môn Y Sinh học - Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Akolekar R, Beta J, Picciarelli G et al., Procedure-related risk of miSCArriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 45, 16-26, 2015.
- [2] Hoàng Hải Yến và cộng sự, Nghiên cứu giá trị của phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới phát hiện lệch bội nhiễm sắc thể thai bằng DNA thai tự do trong máu mẹ, 56-129, 2020.
- [3] Hoàng Hải Yến và cộng sự, Bước đầu đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến DNA thai tự do trong huyết tương mẹ. *Tạp chí Phụ sản*, 17(02), 11-17, 2019.
- [4] Yuan T, Linlin Z, Weifang T et al., Analysis of the accuracy of z-scores of noninvasive prenatal testing for fetal trisomy 13,18 and 21 that employs the ion proton semiconduction sequencing platform. *Molecular Cytogenetics*, 11, 49.
- [5] Dar P, Curnow KJ, Gross SJ et al., Clinical experience and follow-up with large SCAle single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol*, 211, 527.e1-17, 2014.
- [6] Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B et al., Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol*, 124, 210-8, 2014.
- [7] Eric W, Annette B, Craig S et al., Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn*, 33, 662-666, 2013.
- [8] Zhou Y, Zhu Z, Gao Y et al., Effects of Maternal and Fetal Characteristics on Cell-Free Fetal DNA Fraction in Maternal Plasma. *Reproductive Sciences*, 22(11), 1429-35, 2015.

