



XÁC ĐỊNH GIÁ TRỊ TRUNG VỊ CỦA PAPP-A VÀ β hCG TỰ DO *cho xét nghiệm double test trên mẫu máu khô*

ThS.Bs. Nguyễn Thị Minh Vân
CN. Phạm Quốc Cường

Hội thảo sàng lọc và chẩn đoán trước sinh, sàng lọc sơ sinh
19/12/2013

1

NỘI DUNG

1. TỔNG QUAN CHƯƠNG TRÌNH SLTS
2. MỤC TIÊU
3. PHƯƠNG PHÁP THỰC HIỆN
4. KẾT QUẢ
5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

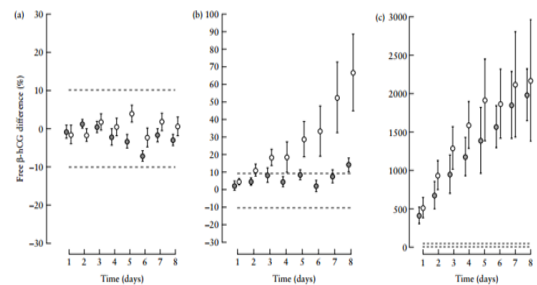
2

SÀNG LỌC TRƯỚC SINH 3 THÁNG ĐẦU

- Double test (PAPP-A và β hCG tự do)/ huyết thanh
- Thời gian thực hiện XN 11 – 13 tuần 6 ngày
- XN Double test kết hợp với SÂ đo NT
- Hạn chế phương pháp thực hiện

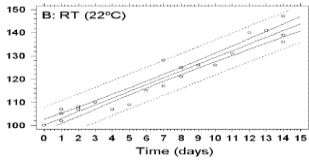
3

Tính ổn định β hCG tự do/HT

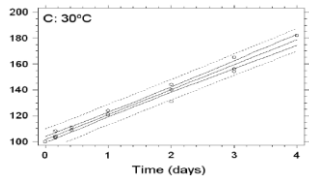


4

Tính ổn định β hCG tự do/HT



- Mẫu huyết thanh cần được lưu ở 4°C và thời gian vận chuyển phải nhanh nhất đến PXN

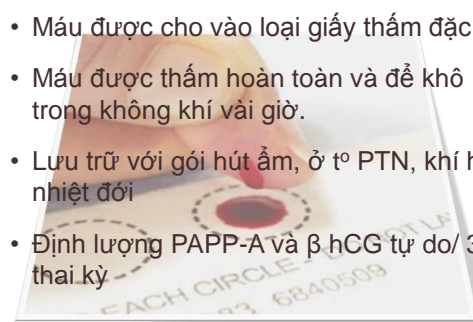


- β hCG tự do tăng rất nhanh ở t° RT hoặc cao hơn do có sự phân hủy tiểu phần β hCG tự do từ hCG

Cowans et al 2011 5

Mẫu máu khô trên giấy thấm (DBS)/ SLTS

- Máu được cho vào loại giấy thấm đặc biệt
- Máu được thấm hoàn toàn và để khô trong không khí vài giờ.
- Lưu trữ với gói hút ẩm, ở t° PTN, khí hậu nhiệt đới
- Định lượng PAPP-A và β hCG tự do/ 3T thai kỳ

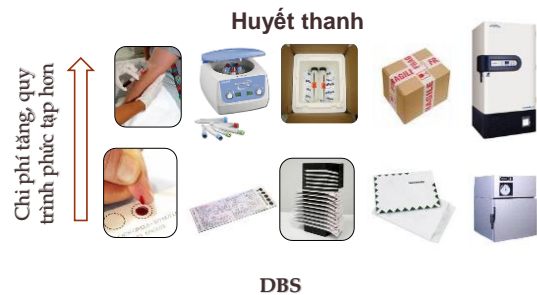


Ưu điểm mẫu máu trên giấy thấm (DBS)

- Lấy mẫu đơn giản, không cần máy ly tâm
- Bảo quản và vận chuyển dễ dàng, an toàn
- Giảm chất thải sinh học
- Tỷ lệ phát hiện bất thường tương đương
- Thuốc thử DBS được FMF chấp nhận
- Có chương trình ngoại kiểm

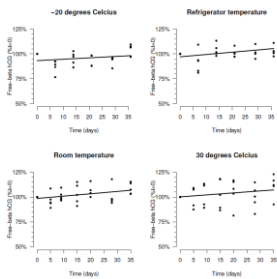
7

Chi phí hợp lý lấy mẫu, vận chuyển & lưu giữ DBS



8

Sự ổn định β hCG tự do/ DBS được cải thiện rất nhiều so với HT



- o β hCG tự do luôn ổn định (thay đổi dưới 10%) ít nhất là 35 ngày
- o PAPP-A không thay đổi ở -20°C hoặc tủ lạnh
- o Tuy nhiên, RT & 30°C: PAPP-A \downarrow theo thời gian
 - RT: 11,5 ngày \downarrow 5% và 23 ngày \downarrow 10%
 - 30 °C: 4,4 ngày \downarrow 5% và 8,8 ngày \downarrow 10%

Cowans et al 2011 9

Kết quả đạt được của các NC

Quốc gia	Tác giả	Cỡ mẫu	Tỉ lệ phát hiện	Tỉ lệ dương tính giả
Ý	Orlandi, 1997	2010	87%	5%
Anh	Krantz, 2000	10251	91%	7.9%
Anh	Siran C., 2006	3883	90.9%	5%
Ý	Krantz, 2011	146513	90-92%	5%

DBS là một lựa chọn quan trọng cần bổ sung cho SLTS/ 3 tháng đầu thai kỳ

10

Kết quả đạt được của các NC (tt)

- Nicholas J. Cowan, “Evaluation DBS”– 2013
 - PAPP-A/DBS và HT tương đương
 - β hCG tự do/ DBS cao hơn trong HT
 - TN \uparrow t° và độ ẩm khi làm khô DBS \Rightarrow \uparrow β hCG tự do và \downarrow PAPP-A
- **Kết luận:** Mặc dù β hCG tự do/DBS cao hơn trong HT, nhưng phân tích DBS vẫn có giá trị chẩn đoán SL T21/3T đầu thai kỳ

11

Trung tâm SLTS đang thực hiện

Trung tâm xét nghiệm	Quốc gia	Năm bắt đầu	Số lượng thực hiện được
NTD labs New York	Hoa Kỳ	1992	75% SLTS/3 tháng đầu thai kỳ
CGC Genetics	Bồ Đào Nha	2001	70% SLTS/3 tháng đầu thai kỳ
Warnex ở Quebec	Canada	2005	25.000 mẫu SLTS/3 tháng đầu thai kỳ
Centro di Diagnosi Prenatale Palermo	Italy		10.000 mẫu SLTS ba tháng đầu thai kỳ

Trung tâm SLTS đang xem xét

Việt Nam, Ấn Độ, Trung Quốc, Ukraine, Hà Lan, Tây Ban Nha, Hi Lạp, Brazil, Argentina

12

Tình hình tại Việt Nam

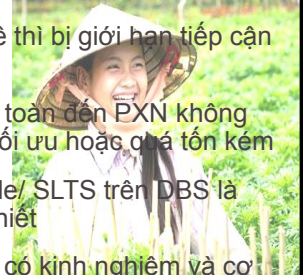


- o Sản phụ ở thành thị có điều kiện tiếp cận được CT SLTS tại các trung tâm y khoa và bệnh viện với XN trên mẫu huyết thanh
- o Mẫu HT không phải di chuyển xa đến PNX

13

Tình hình tại Việt Nam (tt)

- Sản phụ ở vùng quê thì bị giới hạn tiếp cận CT SLTS
- Việc v/c mẫu HT an toàn đến PNX không đảm bảo điều kiện tối ưu hoặc quá tốn kém
- Triển khai XN Double/ SLTS trên DBS là quan trọng và cấp thiết
- Thuận lợi: nhân lực có kinh nghiệm và cơ sở trang thiết bị hoàn chỉnh



14

Mục tiêu

Xác định giá trị trung vị của PAPP-A và β hCG tự do trong mẫu máu khô trên giấy thấm

15

Phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

- Tiêu chuẩn nghiên cứu
 - Người Việt mang thai từ 11 - 13 tuần 6 ngày
 - Khám thai tại BV TD & tự nguyện
- Tiêu chuẩn loại trừ: mang thai nhờ IVF
- Cỡ mẫu dự kiến: 400
- Thời gian thực hiện: 11/2012 đến 11/2013
- Nơi thực hiện: Bệnh viện Từ Dũ

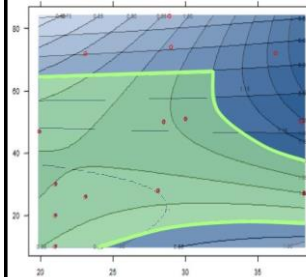
16

Phương pháp nghiên cứu (tt)

- Thiết kế nghiên cứu mô tả.
- Phương pháp XN: ĐL PAPP-A và β hCG tự do/DBS MD huỳnh quang trì hoãn
- Trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất do CTy PerKinElmer cung cấp
- Xử lý & tính KQ LifeCycle 3.2, MultiCalc^R
- ĐK phòng lấy mẫu bệnh phẩm & thực hiện XN
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm DBS

17

Điều kiện lấy, làm khô mẫu bệnh phẩm cho ĐL PAPP-A & β hCG tự do



- Điều kiện lấy và làm khô mẫu bệnh phẩm
 - Nhiệt độ 20 – 32°C
 - Độ ẩm \leq 70%
- Mẫu bệnh phẩm phải được vận chuyển đến PXN trong vòng 4 ngày

Cowans et al 2011

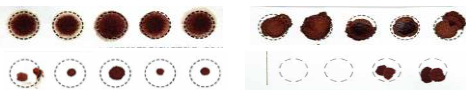
18

Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm DBS

Mẫu bệnh phẩm DBS đạt



Mẫu bệnh phẩm DBS không đạt



19

Quy trình DBS

Quy trình sàng lọc trước sinh giọt máu khô

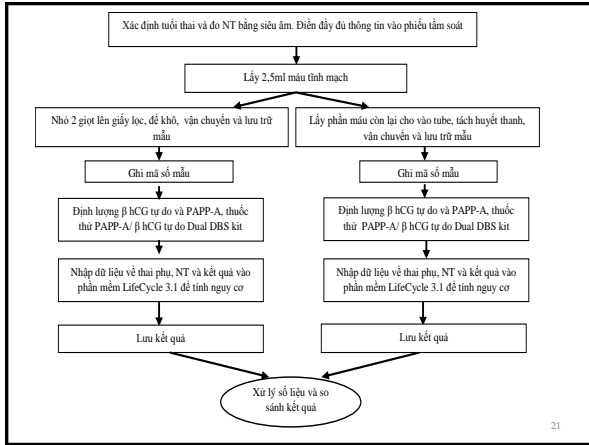
Nơi thu mẫu



Phòng xét nghiệm



20



21

Kết quả (tt)

- Phân bố **tuổi mẹ** theo tuần tuổi thai

Tuần thai	N	Trung vị	Trung bình	Giá trị thấp	Giá trị cao
11	104	29.0	29.2	21.0	40.0
12	243	28.0	28.7	19.0	42.0
13	128	28.0	28.6	19.0	42.0
Tổng	475	28.0	28.8	19.0	42.0

- Phân bố **cân nặng** theo tuần tuổi thai

Tuần thai	N	Trung vị	Trung bình	Giá trị thấp	Giá trị cao
11	84	49.0	50.2	40.0	72.0
12	203	50.0	51.4	40.0	72.0
13	109	50.0	50.8	40.0	75.0
Total	396	50.0	51.0	40.0	75.0

22

Kết quả (tt)

- Trung vị **nồng độ** của PAPP- A & beta hCG tự do/DBS theo tuần tuổi thai

Tuần thai	N	Beta hCG tự do (ng/mL)		PAPP- A (U/L)	
		Trung vị	Trung bình	Trung vị	Trung bình
11	104	84.4	101.8	1.097	1.312
12	243	73.6	85.9	1.430	1.769
13	128	71.4	81.4	2.573	2.863
Tổng	475	75.3	88.2	1.640	1.964

23

Kết quả (tt)

- MoMs trước khi hiệu chỉnh của PAPP- A & beta hCG tự do/DBS

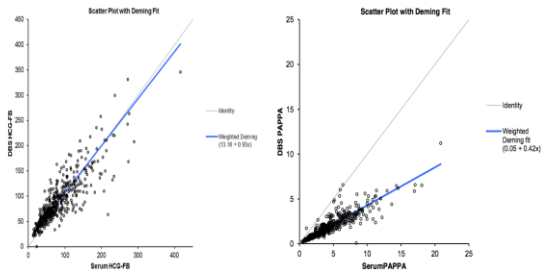
Tuần thai	N	Beta hCG tự do	PAPP- A
		Trung vị	Trung vị
11	84	1.503	1.247
12	203	1.500	1.191
13	109	1.791	1.416
Tổng	396	1.589	1.303

- MoMs sau hiệu chỉnh của PAPP- A & beta hCG tự do/DBS

Tuần thai	N	Beta hCG tự do	PAPP- A
		Trung vị	Trung vị
11	84	0.948	0.968
12	203	0.946	0.925
13	109	1.130	1.099
Tổng	396	1.002	1.012

24

So sánh hCG beta tự do & PAPP-A DBS và HT



Các kết quả này cũng tương tự với kết quả của các nghiên cứu trước đây.

25

Giá trị trung vị mới được FMF công nhận



26

Kết luận & Kiến nghị

Kết luận

- DBS là sự thay thế tuyệt vời của huyết thanh, đặc biệt mẫu được lấy từ vùng sâu vùng xa
- Ngay lúc này có thể ứng dụng XN Double/DBS trong SLTS/ 3 tháng đầu của thai kỳ tại Khoa Xét nghiệm Di truyền Y học, Bệnh viện Từ Dũ

27

Kiến nghị

Bắt đầu triển khai thí điểm xét nghiệm Double trên DBS cho một trong số các tỉnh thành phía Nam tham gia sàng lọc trước sinh của đề án nâng cao chất lượng dân số từ năm 2014 tại Bệnh viện Từ Dũ.

28



29