



# QUÁCH THỊ HOÀNG OANH

## THẠC SĨ – BÁC SĨ

*Bệnh viện Từ Dũ*

*Việt Nam*

HỘI NGHỊ SẢN PHỤ KHOA  
VIỆT - PHÁP - CHÂU Á - THÁI BÌNH DƯƠNG  
LẦN THỨ  
TP. HỒ CHÍ MINH, 19 & 20/5/2016

16

---

# Ứng dụng NIPT tại Việt Nam

## TRIỂN VỌNG VÀ THÁCH THỨC

Ths. Bs. Quách Thị Hoàng Oanh  
Khoa XN di truyền y học – Bệnh viện Từ Dũ



# Gánh nặng về dị tật bẩm sinh & di truyền

## Tỉ lệ ngày càng tăng

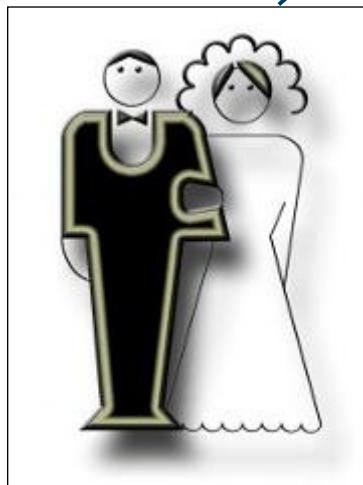
- 30% các bệnh nhập viện ở trẻ em
- 20% tử vong sơ sinh & 50% tử vong ở TE
- > 50% sảy thai trước 13 tuần do rối loạn NST

## Khó điều trị, tổn kém, chất lượng cuộc sống kém

Nguồn: Prenat Neonat Med 1999;4:157-164



# Phòng ngừa rối loạn di truyền



**PMD**  
CĐ trước hôn nhân



**PGD**  
CĐDT trước làm tổ



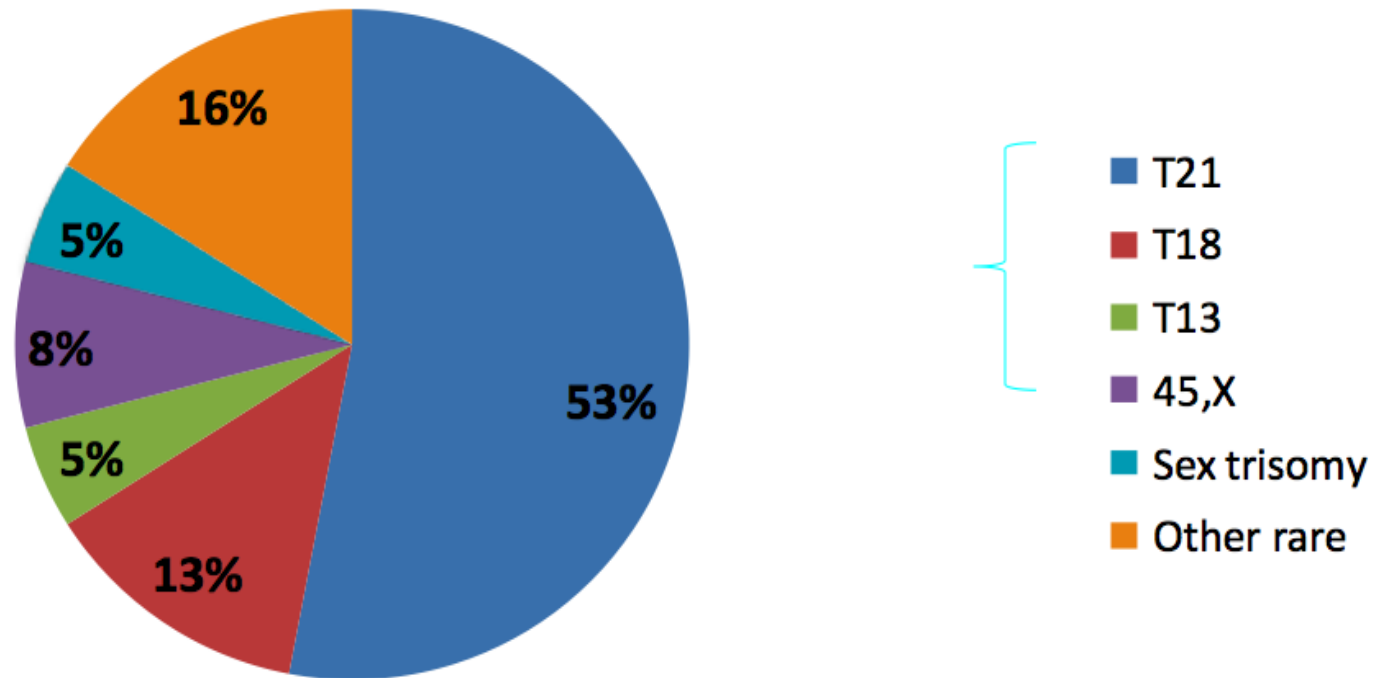
**PND**  
SL-CĐ trước sinh



**NBD**  
CĐ ngay sau sinh

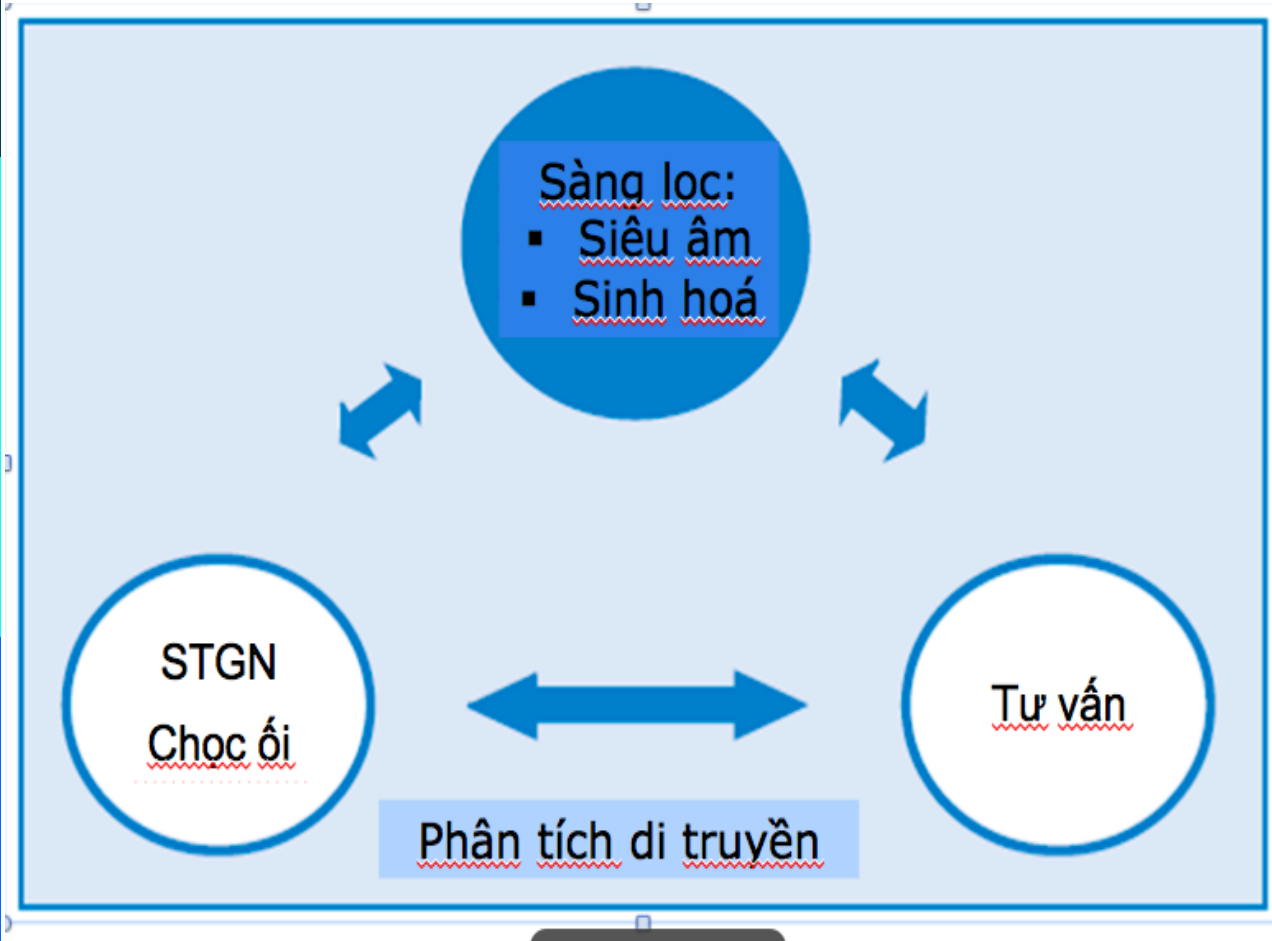
# Phân bố bất thường NST trước sinh

**Percent of Reported Chromosome Abnormalities**



Data adapted from Wellesley, D, et al., Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J of Hum Gen*, 11 January 2012.

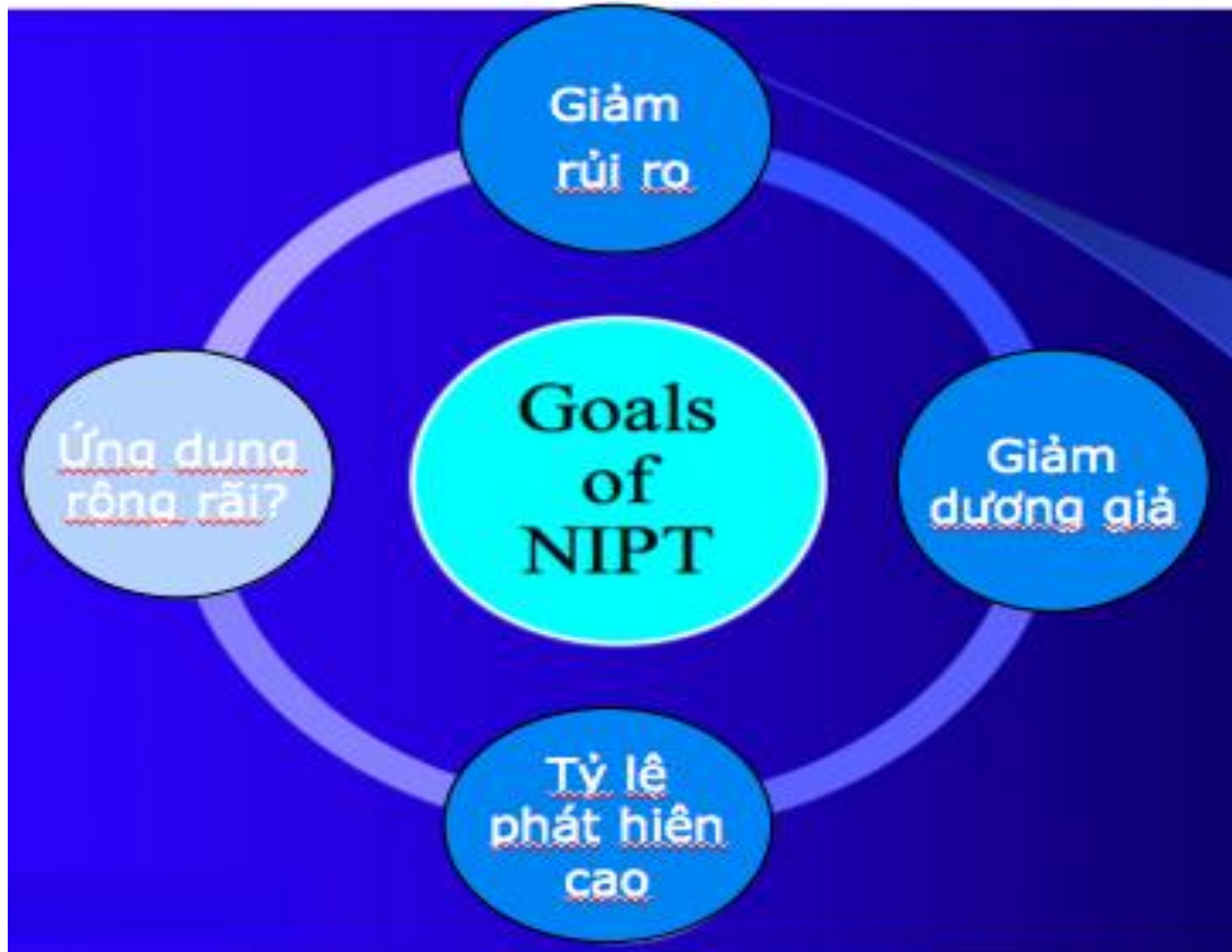
# Sàng lọc – chẩn đoán trước sinh hiện nay



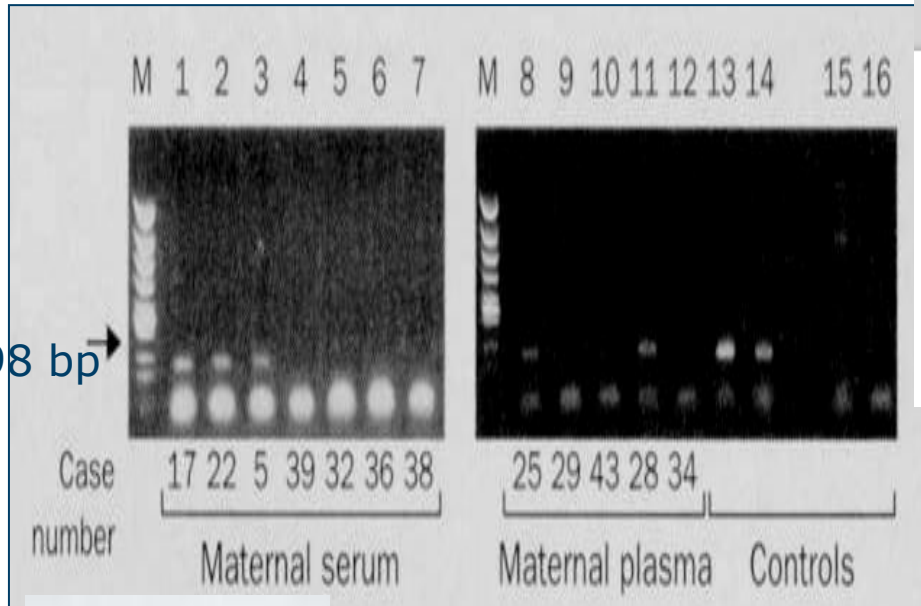
## Hạn chế:

- Độ phát hiện: tối đa 94%
- Dương tính giả: 5%
- Rủi ro từ thủ thuật xâm lấn: 0,1-1%

# 2010's: NIPT/NIPS



# Cơ sở NIPT: DNA thai tự do



PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed [dropdown] [input]  
Advanced

Abstract ▾

C R Seances Soc Biol Fil. 1948 Feb;142(3-4):241-3.

**Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme.**  
[Article in Undetermined Language]  
MANDEL P, METAIS P.

PMID: 18875018 [PubMed - indexed for MEDLINE]



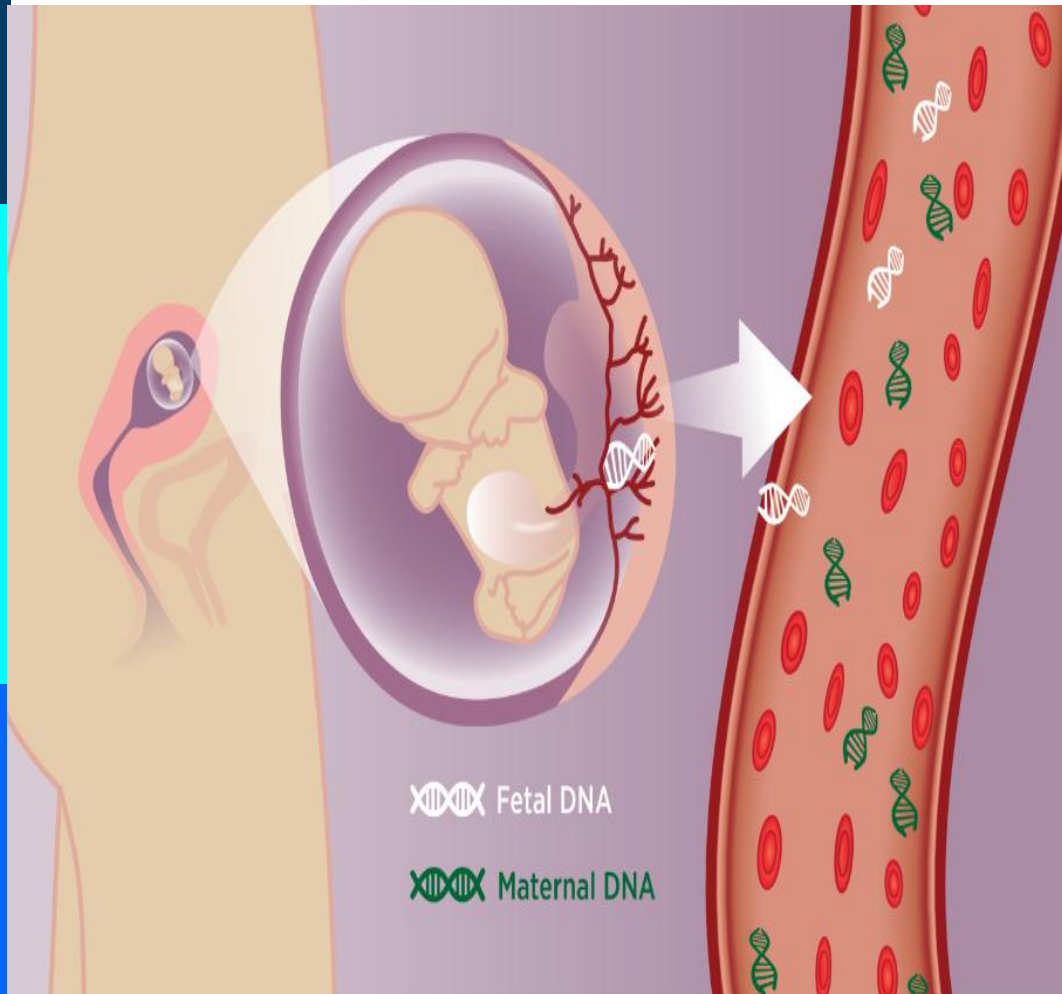
10. Mandel P, Métais P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'homme. C R Seances Soc Biol Fil. 1948;143:241-3.

Lo et al. *Lancet* 1997; 350:485





# DNA thai tự do trong máu mẹ



- DNA ngắn: 150-340 bp
- Nguồn gốc: tế bào nhau thai, phần nhỏ từ hệ thống tạo máu.
- Tăng dần theo thai kỳ: 3-19%
- Thời gian bán hủy: 16,3 phút

# Lịch sử phát triển của NIPT

---

- 1997: Lo et al. : tìm DNA của NST Y trong máu thai phụ mang thai nam
- 2001 : xác định kiểu gen Rh(D)
- 2006 : xác định nhiễm sắc thể giới tính
  - Bệnh di truyền liên kết X (DMD, Hemophilia...)
  - Giới tính
- ➔ Dựa trên nguyên lý PCR thông thường: hạn chế tính đặc hiệu, độ nhạy
- ➔ Ứng dụng trong tầm soát bất thường NST: hạn chế, nhiễu thông tin, mất thời gian...



# Sự ra đời của giải trình tự gen thế hệ mới (NGS)

---

Giải trình tự 1 triệu – 43 tỉ đoạn DNA ngắn/ lần vận hành

- đơn giản hoá chẩn đoán bệnh đa gen, di truyền
- 2011: NIPT chính thức giới thiệu

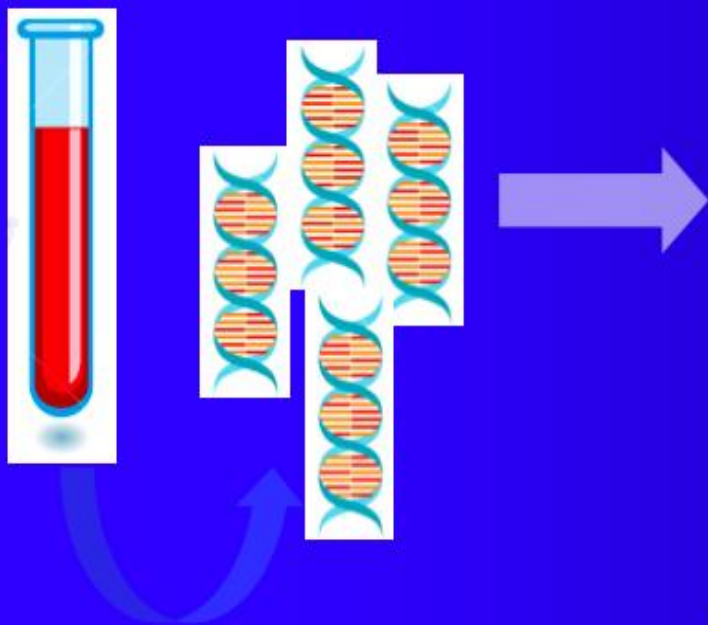
## **2008 detection of Trisomy 21**

- **Chiu RW, Chan KC, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:20458-20463**
- **Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:16266-16271**

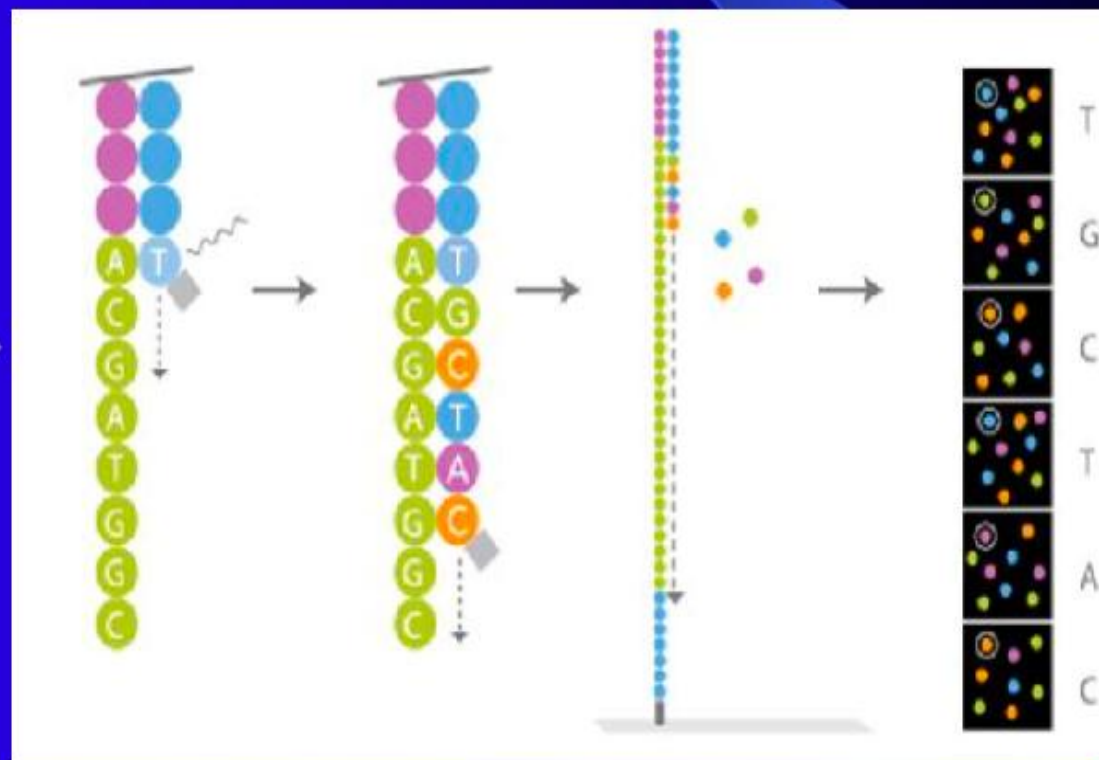


# NGS và NIPT

## 1 Extract and Prepare cfDNA

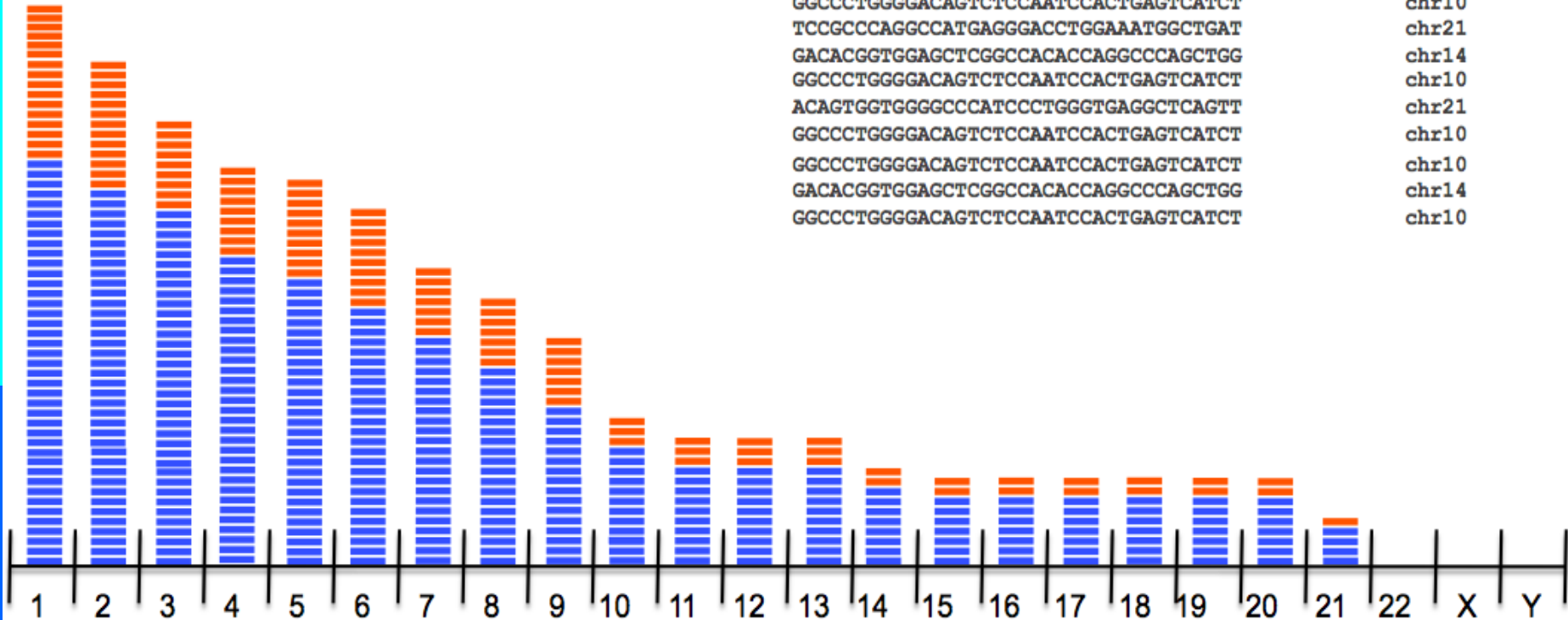


## 2 Next-Gen Sequencing



# NGS và NIPT: giống hàng và lập bản đồ

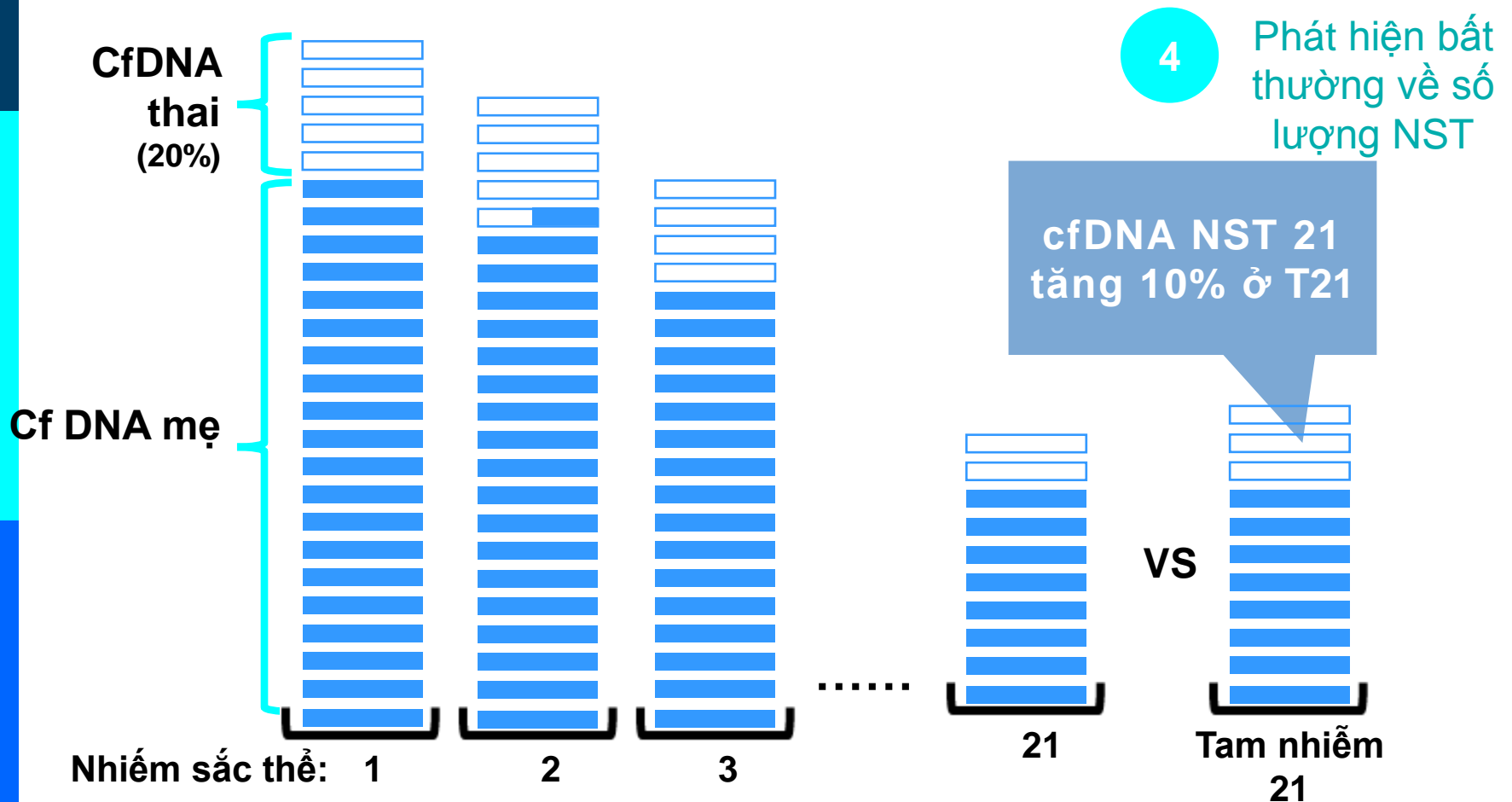
Sequencing tells you which chromosome the ccf fragment comes from



```
TCCGCCCAGGCCATGAGGGACCTGGAAATGGCTGAT chr21
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GACACGGTGGAGCTCGGCCACACCAGGCCAGCTGG chr14
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
ACAGTGGTGGGGCCCATCCCTGGGTGAGGCTCAGTT chr21
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
TCCGCCCAGGCCATGAGGGACCTGGAAATGGCTGAT chr21
GACACGGTGGAGCTCGGCCACACCAGGCCAGCTGG chr14
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
ACAGTGGTGGGGCCCATCCCTGGGTGAGGCTCAGTT chr21
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
GACACGGTGGAGCTCGGCCACACCAGGCCAGCTGG chr14
GGCCCTGGGGACAGTCTCCAATCCACTGAGTCATCT chr10
```



# NGS/NIPT: Phân tích kết quả, đếm số lượng NST



*Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 249–266

Published online 1 February 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.14791



## Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis

- Tổng hợp từ 37 nghiên cứu 2011-2015
- 5 nghiên cứu từ dân số chung
- Hầu hết: hồi cứu hoặc tiến cứu

# Giá trị NIPT (n=21.608)

LỆCH BỘỊ	SỐ LƯỢNG	DR (%)	DƯƠNG GIẢ (%)
Trisomy 21	1.051	99,2	0,09
Trisomy 18	389	96,3	0,13
Trisomy 13	139	91	0,13
Monosomy X	177	90,3	0,23
Khác	56	93	0,14
Trisomy 21 (sinh đôi)		93,7	0,23

**Gil M.M. Ultrasound Obstet Gynecol 2015**





# Giá trị của NIPT

**Table 1.** Cell-free DNA Test Performance Characteristics in Patients Who Receive an Interpretable Result\* ↵

			Age 25 years	Age 40 years
	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	PPV (%)
Trisomy 21	99.3	99.8	33	87
Trisomy 18	97.4	99.8	13	68
Trisomy 13	91.6	99.9	9	57
Sex chromosome aneuploidy	91.0	99.6	-- <sup>t</sup>	--

(Nguồn: committee opinion, No.640, sep 2015)

# Giá trị của NIPT: tỷ lệ phát hiện HC Down/sảy thai do thủ thuật

	DR	FPR	Tỷ lệ Down/sảy CVS (sảy 1/100)	Tỷ lệ Down/sảy Chọc ối (sảy 1/500)
Combined test Quý I	90%	5%	5:2	13:1
Triple test Quý II	70%	5%		10:1
NIPT	99,3%	0,16%	90:1	444:1
	99,8%	0.05%	180:1	1400:1

. ACOG Practice Bulletin No. 77, January 2007

. Benn et al, Ultras Obstet Gynecol 2013, 42: 15-33

T21: 1/700



# ACOG Committee Opinion on NIPT



- *“Cell free fetal DNA appears to be the most effective screening test for aneuploidy in high risk women... is one option that can be used as a primary screening test in women at increased risk of aneuploidy”*
- *“[NIPT] should be an informed patient choice after pretest counseling”*
- *“[NIPT] should not be offered to low-risk women or women with multiple gestations”*
- *“A patient with a positive test result should be referred for genetic counseling and should be offered invasive prenatal diagnosis for confirmation of test results.”*

Also supporting NIPT for high risk pregnancies:



Đồng thuận với thai kỳ nguy cơ cao



# NIPT: hạn chế

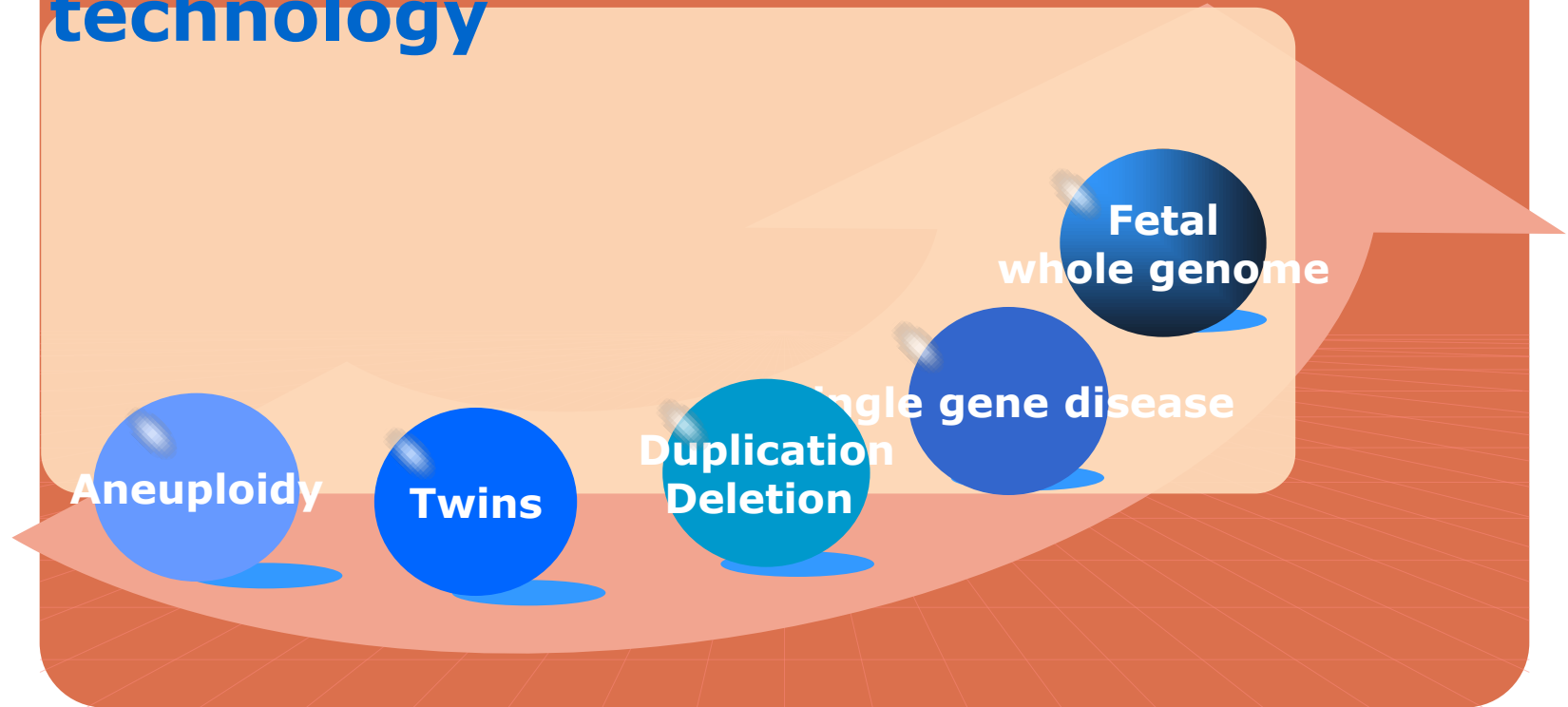
---

- Giá: cao
- Ứng dụng cho thai kỳ nguy cơ thấp, song thai, vi mất đoạn, bệnh gen:  $\pm$
- Bất tương hợp kết quả:
  - Khảm khu trú bánh nhau
  - Khảm thai
  - Song thai, 1 thai mất
  - Mẹ: bất thường NST
  - Song thai không tương hợp
  - Mẹ: ung thư



# Triển vọng của NIPT

## Non-invasive technology



J. Cao 2014

# NIPT tại Việt Nam

---

verifi®

SEQUENOM®

 natera™  
Conceive. Deliver.

 Ariosa™

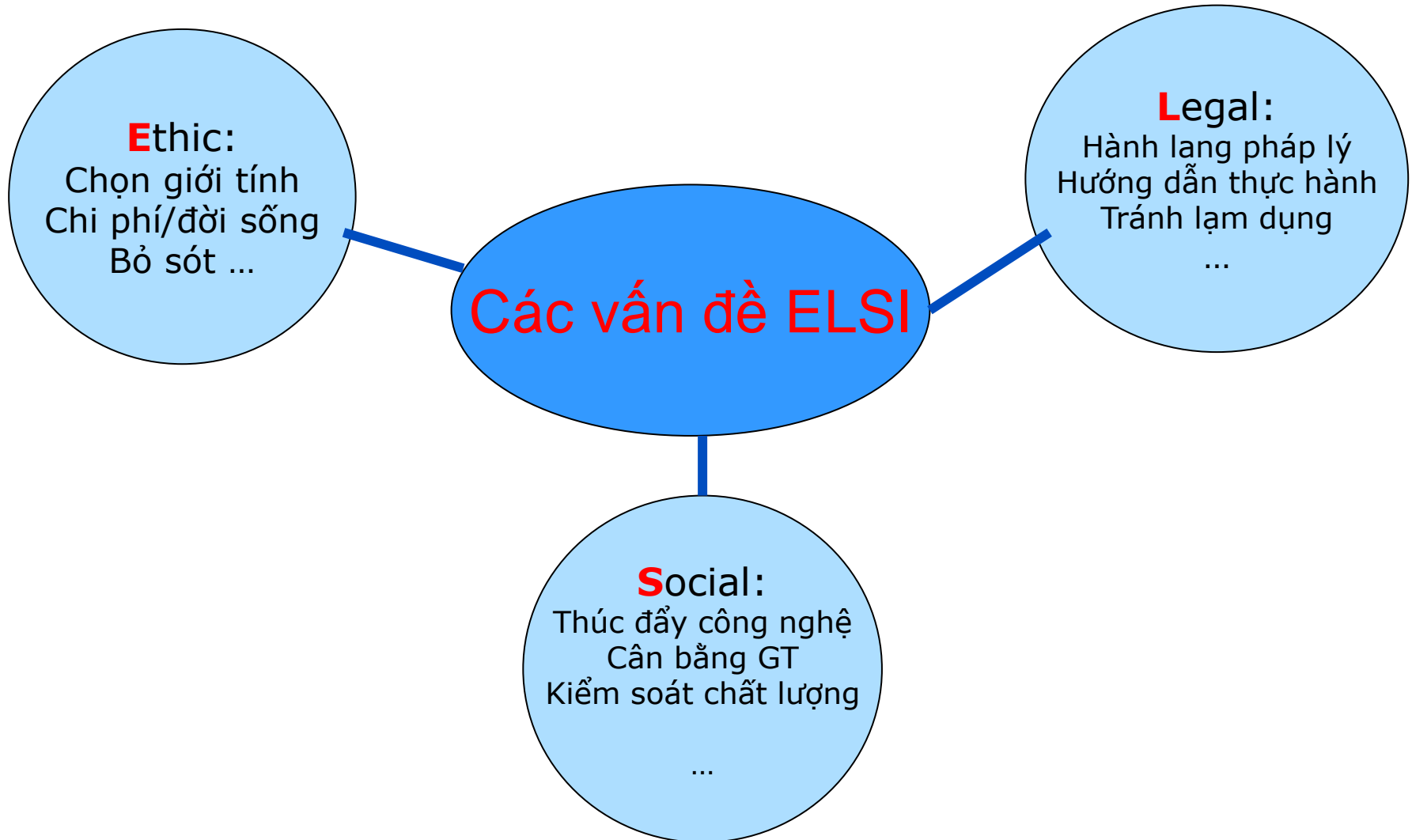
 BerryGenomics  
贝瑞和康

 华大基因  
BGI

- Thai phụ có cơ hội tiếp cận tiến bộ mới
- Trả lời kết quả:
  - Phù hợp với Trisomy – bình thường
  - Bị bệnh – không bị bệnh
  - Nguy cơ cao – nguy cơ thấp
  - Dương tính – âm tính
  - Khả năng lệch bội
  - PPV, residual risk value: ±

# NIPT tại Việt Nam

---



# Ứng dụng cffDNA tại Việt Nam

---

- Phát hiện DNA tự do của thai trong huyết tương phụ nữ mang thai bằng kỹ thuật PCR, ứng dụng chẩn đoán bệnh di truyền trước sinh (Trịnh Tiến Sang và cs, 2013, tạp chí y học Việt Nam)
- Công nghệ NGS: mới mẻ, chưa phát triển
- Công nghệ sinh tin: chưa được chú trọng
- Báo cáo về NIPT: chưa có





Tháng 2/2016

NGHIÊN CỨU KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ NĂM 2015  
CẤP THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Tên đề tài

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CỦA PHƯƠNG PHÁP  
GIẢI TRÌNH TỰ THỂ HỆ MỚI TRONG PHÁT  
HIỆN SỚM MỘT SỐ LỆCH BỘI NHIỄM SẮC  
THỂ QUA DNA THAI TỰ DO TRONG MÁU MẸ

Chủ nhiệm đề tài:

PGS. TS. BS Đỗ Thị Thanh Thủy

ThS. BS Lê Quang Thanh

Cơ quan chủ quản: Đại học Y Dược Tp. HCM

Tp. Hồ Chí Minh, năm 2016

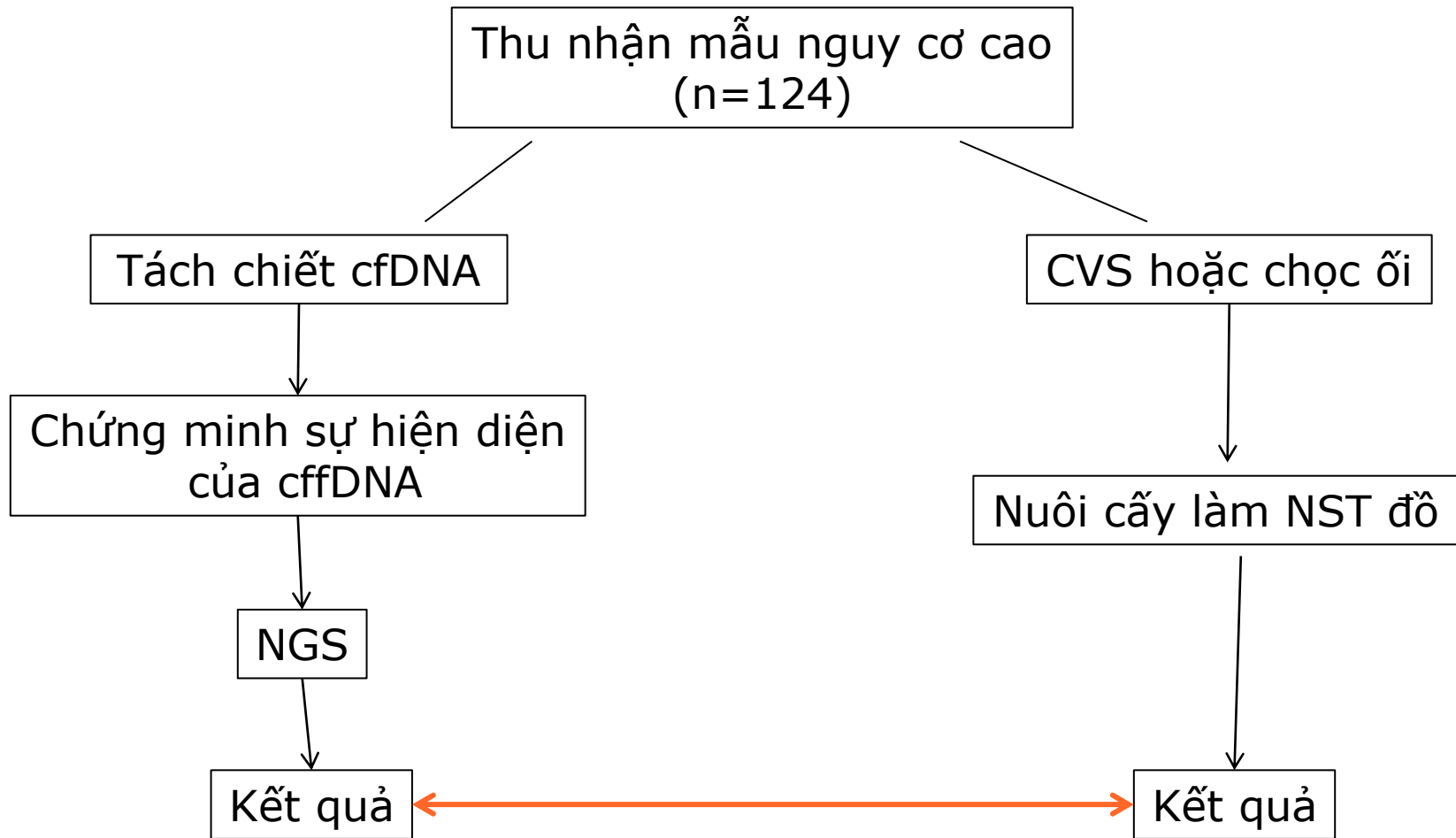


## ➤ Mục tiêu nghiên cứu

---

- Xây dựng qui trình tách chiết cfDNA từ máu mẹ và chứng minh sự hiện diện của cffDNA
- Xác định giá trị (độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán âm, giá trị tiên đoán dương) của phương pháp NGS trong phát hiện một số lệch bội NST qua cffDNA trong máu mẹ với phương pháp chẩn đoán xâm lấn.

# Lưu đồ thực hiện



# KẾT LUẬN

---

- NIPT: xu hướng tất yếu trong sàng lọc và chẩn đoán trước sinh
- Ứng dụng NIPT tại Việt Nam: còn nhiều vấn đề kinh tế, xã hội, luật pháp, kỹ thuật...
- Cần đẩy mạnh nghiên cứu ứng dụng cffDNA, làm cơ sở cho xây dựng hành lang pháp lý, hướng dẫn thực hành NIPT tại Việt Nam

Thank you!

