THIẾT KẾ PHẦN MỀM "NỘI BỘ" SÀNG LỌC TIỀN SINH HỘI CHỨNG DOWN VÀ KHUYẾT TẬT ỐNG THẦN KINH Ở TUẦN THAI 15 – 22

Lê Phan Tưởng Quỳnh, Nguyễn Viết Nhân
Bộ môn Di truyền y học, Trường Đại học Y Dược Huế

Mục tiêu: Thiết kế một phần mềm "nội bộ" để tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down, hội chứng Edwards và khuyết tật hở của ống thần kinh trong sàng lọc trước sinh ở tuần thai 15-22 dựa trên ba chỉ số huyết thanh AFP, uE3 và hCG của sản phụ. **Phương pháp:** Dựa trên chương trình Excel của Microsoft Office và các kết quả nghiên cứu về đánh giá nguy cơ đã được công bố. **Kết quả:** Nguy cơ thai nhi mắc Trisomy 21 với ngưỡng từ 1/251 đến 1/350, nguy cơ được tính có xu hướng thấp hơn so với phần mềm Prisca (83,7%). Trường hợp sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ cao mắc Trisomy 21 nhưng kết quả chẩn đoán không mắc Trisomy 21: Phần mềm "nội bộ" cho nguy cơ thấp hơn so với phần mềm Prisca (73%) với 29% trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính là nguy cơ thấp hơn 1/250. Trường hợp sàng lọc Trisomy 18 với ngưỡng thấp hơn 1/150: sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm ($p<0,05$). Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP cao hơn 1,50: Phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho kết quả nguy cơ cao hơn so với phần mềm Prisca (94%). Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP thấp hơn 1,5: không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm ($p>0,05$). **Kết luận:** Phần mềm "nội bộ" có đủ các chức năng cần thiết để sử dụng cho việc tính nguy cơ trong sàng lọc trước sinh hội chứng Down, hội chứng Edwards và khuyết tật hở của ống thần kình ở tuần thai 15-22.

Abstract

DESIGN AN "IN-HOUSE" SOFTWARE FOR CALCULTING THE RISK OF TRISOMY 21 AND OPEN NEURAL TUBE DEFECTS IN THE GESTATIONAL AGE 15 – 22 WEEKS

Le Phan Tuong Quynh, Nguyen Viet Nhan
Department of Humman Genetics, Hue University of Medicine and Pharmacy

Objectives: Design an "in-house" software for calculating the risk of fetus has Down syndrome, Edwards syndrome and open neural tube defects in prenatal screening at the gestational age 15-22. **Methods:** Based on the Excel program of Microsoft Office and the articles with the Excel of Microsoft Office and the related articles have been published. **Results:** In cases have the risk of trisomy 21 with the range from 1/251 to 1/350: the risk tends to be lower than Prisca (83.7%). In cases have the high risks of trisomy 21 in screening but the results of prenatal diagnosis are not trisomy: the risks of "in house" software are lower than the risks of Prisca (73%) with 29% of cases has the risks less than 1/250 . In cases of trisomy 18 with the risks are lower than 1/150: there are statistical significant differences between the two softwares ($p <0.05$). In screening open neural tube defects, the cases have the threshold higher than 1.50 MoM AFP: The results in the "in house" software tend to higher than Prisca (94%). The cases have the threshold lower than

1.50 MoM AFP: Where the disability screening of neural tube openings with thresholds lower than 1.5 MoM AFP: there are no statistical significant differences between the two softwares (p >0.05). **Conclusion:** The "in house" software has all the necessary functions for calculating the risk of Down syndrome, Edwards syndrome and open neural tube at the gestational age 15-22.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Down (thể ba nhiễm 21, trisomy 21) được gặp trong cộng đồng với tần số 1/700 - 1/1000 [12],[17], là một loại dị tật bẩm sinh được Tổ chức Y tế Thế giới xếp vào hàng thứ 4 trong 5 loại dị tật bẩm sinh phổ biến nhất và đây cũng là loại dị tật bẩm sinh phổ biến gây ra tình trạng chậm phát triển tâm thần. Do đó, từ thập niên 80 nhiều quốc gia đã triển khai các chương trình sàng lọc và chẩn đoán trước sinh hội chứng Down trên phạm vi toàn quốc [1],[27].

Trong quý II của thai kì, ở tuần thai 15 đến 22 việc sàng lọc hội chứng Down được thực hiện phổ biến thông qua phân tích nồng độ của 3 chỉ số huyết thanh trong máu mẹ là AFP, hCG và uE3 [9]. Ba chỉ số huyết thanh này không chỉ giúp sàng lọc hội chứng Down mà còn giúp sàng lọc hội chứng Edwards (thể ba nhiễm 18, trisomy 18) và khuyết tật hở của ống thần kinh (KTOTK), một loại dị tật bẩm sinh được Tổ chức Y tế Thế giới xếp vào hàng thứ 2 trong 5 loại dị tật bẩm sinh phổ biến nhất.

Việc tính toán nguy cơ thai nhi mắc thể ba nhiễm 21 hoặc khuyết tật hở ống thần kinh phải căn cứ trên các nghiên cứu trên quy mô lớn và các thuật toán phức tạp nhưng cần thiết để có thể tư vấn cho sản phụ. Đó là lí do rất nhiều hãng sản xuất các thiết bị sàng lọc và cung cấp các sinh phẩm cho công tác sàng lọc thiết kế các phần mềm tính nguy cơ.

Các phần mềm này có một số nhược điểm là giá đắt, ngôn ngữ đa số là tiếng Anh, các thông số được sử dụng không phải của người Việt Nam và để có nguy cơ chính xác cần hiệu chỉnh một số giá trị trong quá trình sàng lọc của từng đơn vị xét nghiệm, điều này đòi hỏi phải tốn chi phí và sự hỗ trợ của các chuyên gia của hãng cung cấp phần mềm.

Vì những lí do trên chúng tôi thực hiện đề tài: ***Thiết kế phần mềm "nội bộ" sàng lọc tiền sinh hội chứng Down và khuyết tật ống thần kinh ở tuần thai 15 – 22***, nhằm xây dựng một phần mềm tính nguy cơ thai nhi thuận tiện cho việc sử dụng rộng rãi và dễ dàng cập nhật.

Mục tiêu của đề tài:

Thiết kế một phần mềm dựa trên nền Excel để tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down (thể ba nhiễm 21), hội chứng Edwards (thể ba nhiễm 18) và khuyết tật hở ống thần kinh ở tuổi thai từ 15 – 22 dựa trên ba chỉ số huyết thanh AFP, uE3 và hCG của sản phụ.

2. PHƯƠNG PHÁP

Căn cứ trên các nghiên cứu của các tác giả về tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down, hội chứng Edwards, KTOTK, phần mềm Excel của Miscrosoft được sử dụng để lập một chương trình tự động tính nguy cơ của thai kỳ dựa trên các chỉ số:

- Tuổi mẹ
- Cân nặng
- Tiền sử sinh con mắc hội chứng Down, hội chứng Edwards
- Tình trạng mắc bệnh đái tháo đường phụ thuộc Insulin
- Tình trạng hút thuốc của mẹ
- Tình trạng thai đơn, thai đôi, thụ tinh trong ống nghiệm
- Tuổi thai được tính dựa trên kết quả đo chiều dài đầu mông bằng siêu âm
- Nồng độ của các chất AFP, hCG và uE3 trong huyết thanh máu mẹ

2.1. Đánh giá nguy cơ nền trong sàng lọc trước sinh hội chứng Down

2.1.1. Tính tuổi mẹ tới khi sinh

Tuổi mẹ tính tới khi sinh = Ngày sinh dự kiến – ngày sinh của mẹ

2.1.2. Tính tuổi thai theo đường kính lưỡng đỉnh (BPD: biparietal diameter) [10]

Tuổi thai theo tuần = 6,8954 + (0,26345 x *BPD mm) + (0,000008771* x *(BPD mm)³)*

2.1.3. Tính ngày sinh dự kiến

Với quá trình mang thai được tính là 280 ngày, ngày sinh dự kiến được tính:

Ngày sinh dự kiến = Ngày siêu âm BPD + (280 – tuổi thai theo ngày)

2.1.4. Tính nguy cơ sinh con mắc hội chứng Down theo tuổi mẹ [11]

0,000631 + exp (-16,60785 + 0,2994 x *tuổi mẹ tới lúc sinh)*

2.1.5. Tính nguy cơ theo tuổi thai [25]

10 exp(0,2718 x *log10 (x²) - 1,023* x *log10 (x) + 0,9425)*

x: tuổi thai theo tuần thập phân

2.1.6. Tính nguy cơ theo tuổi mẹ và tuổi thai

Nguy cơ theo tuổi mẹ và tuổi thai tính theo số thập phân (sử dụng định lý Bias)

Nguy cơ theo tuổi mẹ x *nguy cơ theo tuổi thai*

Nguy cơ này được minh họa dưới dạng tỷ lệ 1/x để thuận lợi cho việc tư vấn.

2.1.7. Tính nguy cơ tái phát

Nếu không có tình trạng chuyển đoạn cân bằng của NST 21, nguy cơ tái phát được tính thêm 0,34% vào nguy cơ theo tuổi mẹ hoặc 0,42% vào quý II của thai kỳ [31].

2.2. Đánh giá nguy cơ nền trong sàng lọc trước sinh hội chứng Edwards

2.2.1. Nguy cơ sinh con mắc hội chứng Edwards theo tuổi mẹ và tuổi thai

Tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Edwards theo tuổi mẹ và tuổi thai dựa trên tương quan tỉ lệ của thể ba nhiễm 21 và 18 theo phương pháp của Snijder và cs (1995) [26]:

Bước 1: Tính nguy cơ sinh con mắc hội chứng Down theo tuổi mẹ [11]

0,000631 + exp (-16,60785 + 0,2994 x *tuổi mẹ tới lúc sinh)*

Bước 2: Dựa trên phương trình hồi quy tuyến tính về mối tương quan giữa tỉ lệ thai nhi mắc thể ba nhiễm 21 và ba nhiễm 18 ở các tuổi thai để suy ra tỉ lệ tương đối thai nhi mắc hội chứng Edwards ở tuổi thai tương ứng (a)

a = 1,236 x *b – 1,147*

b: tỉ lệ tương đối thai nhi mắc thể ba nhiễm 21 ở tuổi thai tương ứng theo phương trình của Snijders và cs (1999) [25].

Bước 3: Tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Edwards theo tuổi mẹ và tuổi thai

Nguy cơ T21 theo tuổi mẹ tới lúc sinh x *Tỉ lệ tương đối thai nhi mắc thể ba nhiễm 18*

2.2.2.Nguy cơ tái phát

Trường hợp đã mang thai hoặc sinh con mắc thể ba nhiễm 18, nguy cơ sinh con mắc hội chứng Down sẽ thêm 0,75% cho đầu quý II của thai kỳ hoặc 0,09% vào lúc sinh [19].

2.3. Đánh giá nguy cơ dựa vào các chỉ số huyết thanh trong sàng lọc trước sinh hội chứng Down và hội chứng Edwards

2.3.1. Tính bội số trung vị (MOM) của các chỉ số huyết thanh

- *Xác định số trung vị (median)*

Giá trị trung vị tính theo tuần tuổi thai dựa trên kết quả nghiên cứu của Đỗ Thị Thanh Thủy [37] theo phương trình hồi quy số mũ y = exp(a + bx) (x là tuổi thai tính theo ngày)

Bảng 2.1. Các tham số được sử dụng để tính số trung vị ứng với từng tuổi thai cho các chỉ số huyết thanh

Các tham số	AFP (IU/mL)	hCG (mIU/mL)	uE3 (ng/mL)
a	0,699591447	12,65621653	-3,07232619
b	0,024025929	-0,01847623	0,036047884

- *Bội số trung vị (MoM:Mulitple of Median)*

Giá trị bội số trung vị (MoM) được tính bằng cách chia nồng độ một chỉ số huyết thanh máu mẹ (hCG, AFP hoặc uE3) đo được của mỗi sản phụ ở một tuổi thai nhất định với giá trị trung vị của chỉ số đó ứng với tuổi thai tương ứng [29].

2.3.2. Hiệu chỉnh theo trọng lượng của sản phụ

Chúng tôi đã dựa trên kết quả sàng lọc của 9771 sản phụ trên hệ thống Immulite do Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp để thiết lập phương trình hồi quy tuyến tính cho mỗi chỉ số với khoảng trọng lượng 5kg.

Bảng 2.2. Các tham số được sử dụng để hiệu chỉnh nồng độ các chỉ số huyết thanh máu mẹ theo cân nặng

Các tham số	AFP	uE3	hCG
a	-0,012	-0,004	-0,004
b	1,784	1,191	1,185

MoM của mỗi sản phụ được hiệu chỉnh theo cân nặng theo phương trình:

MoM hiệu chỉnh theo cân nặng = MoM chưa hiệu chỉnh / (ax+b)

trong đó x là cân nặng của sản phụ theo kg.

2.3.3. Hiệu chỉnh theo chủng tộc

Các chỉ số huyết thanh máu mẹ của người Nam Á được chuyển đổi sang chỉ số tương ứng của người da trắng dựa trên nghiên cứu của Watt và cs (1996) [34] theo bảng sau:

Bảng 2.3. Tỉ số của ba chỉ số huyết thanh ở phụ nữ da trắng và phụ nữ Nam Á, có và không có hiệu chỉnh theo cân nặng

Chỉ số huyết thanh	Số lượng		Tỉ số MoM (95%CI) Phụ nữ Nam Á/ Phụ nữ da trắng		Tỉ số MoM điều chỉnh theo cân nặng và không được điều chỉnh theo cân nặng
	Phụ nữ da trắng	Phụ nữ Nam Á	Không điều chỉnh theo cân nặng	Điều chỉnh theo cân nặng	
AFP	9462	4392	1,03(1,02-1,05)	0,94(0,93-0,96)	0,91
uE_3	9459	4391	1,11(1,09-1,13)	1,07(1,06-1,09)	0,96
hCG	9459	4391	1,12(1,10-1,15)	1,06(1,03-1,08)	0,95

MoM:bội số trung vị (multiple of median) , CI: khoảng tin cậy (confidence interval)

AFP: MoMvn (đã hiệu chỉnh theo cân nặng) / 0,94

hCG: MoMvn (đã hiệu chỉnh theo cân nặng) / 1,06

uE3: MoMvn (đã hiệu chỉnh theo cân nặng) / 1,07

2.3.4. Hiệu chỉnh trong trường hợp song thai

Tính nguy cơ trong trường hợp song thai, chỉ số MoM (đã hiệu chỉnh theo cân nặng) của AFP, uE3 và hCG lần lượt được chia cho 2,13; 1,67 và 1,84 [18].

2.3.5. Hiệu chỉnh trong trường hợp mẹ bị đái tháo đường phụ thuộc Insulin

Tính nguy cơ trong trường hợp mẹ bị đái tháo đường phụ thuộc Insulin, MoM AFP và uE3 của sản phụ sau khi hiệu chỉnh theo cân nặng lần lượt chia cho 0,88 và 0,95 [35].

2.3.6. Hiệu chỉnh trong trường hợp mẹ hút thuốc

Căn cứ trên nghiên cứu của Alicja R.[2] chúng tôi không hiệu chỉnh nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down trong trường hợp mẹ hút thuốc.

2.3.7. Sử dụng kỹ thuật hỗ trợ sinh sản (kích thích rụng trứng hoặc thụ tinh trong ống nghiệm)

Chúng tôi không hiệu chỉnh nồng độ trong sàng lọc hội chứng Down ở quý II của thai kỳ ở nhóm sản phụ được hỗ trợ sinh sản bằng kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm [24].

2.3.8. Đánh giá nguy cơ dựa trên ba chỉ số AFP, uE3 và hCG

Với 3 chỉ số huyết thanh AFP, uE3 và hCG nguy cơ mắc được tính dựa trên phân bố chuẩn logarit ba biến số ở mỗi nhóm thai kỳ bình thường và mắc hội chứng Down như sau [14],[15],[23]:

$$f(x,y,z)=\sum_{i=1}^{n} G_i\left(x,y,z;\mu_x,\mu_y,\mu_z;\sigma_x;\sigma_y;\sigma_z;\rho_{xy};\rho_{xz};\rho_{yz};N\right)$$

$$G_i=\left[\frac{N_i}{(2\pi)^{3/2}\sigma_{xi}\sigma_{yi}\sigma_{zi}\Delta_i^{1/2}}\right]\times\exp\left[-\frac{1}{2}\sum_{j=1}^{3}\sum_{k=1}^{3}A_{jki}\,u_{jiu}\,u_{ki}\right]$$

Trong đó:

$$u_{1i}=\frac{x-\mu_{xi}}{\sigma_{xi}}\ ;\ u_{2i}=\frac{y-\mu_{yi}}{\sigma_{yi}}\ ;\ u_{3i}=\frac{z-\mu_{zi}}{\sigma_{zi}}$$

$$A_{11i}=\left(1-\rho_{yzi}{}^2\right)\Delta_i^{-1}$$
$$A_{22i}=\left(1-\rho_{xzi}{}^2\right)\Delta_i^{-1}$$
$$A_{33i}=\left(1-\rho_{xyi}{}^2\right)\Delta_i^{-1}$$
$$A_{12i}=A_{21i}=\left(\rho_{xzi}\rho_{yzi}-\rho_{xyi}\right)\Delta_i^{-1}$$
$$A_{13i}=A_{31i}=\left(\rho_{xyi}\rho_{yzi}-\rho_{xzi}\right)\Delta_i^{-1}$$
$$A_{23i}=A_{32i}=\left(\rho_{xyi}\rho_{xzi}-\rho_{yzi}\right)\Delta_i^{-1}$$

Với:

- *x: MoM của nồng độ AFP sản phụ.*
- *y: MoM của nồng độ uE3 sản phụ.*
- *z: MoM của nồng độ hCG sản phụ.*
- μ_x*: Trị trung bình của MoM AFP.*
- μ_y*: Trị trung bình của MoM uE3.*
- μ_z*: Trị trung bình của MoM hCG.*
- σ_x*: Độ lệch chuẩn của MoM AFP.*
- σ_y*: Độ lệch chuẩn của MoM uE3.*
- σ_z*: Độ lệch chuẩn của MoM hCG.*

Tất cả các trị số trên đều ở dạng logarit thập phân ($\log_{10}$)

- ρ_{xy}*: Hệ số tương quan giữa AFP và uE3*
- ρ_{xz}*: Hệ số tương quan giữa AFP và hCG*
- ρ_{yz}*: Hệ số tương quan giữa hCG và uE3*
- *Ni = 1*

2.3.9. Sử dụng kết quả nghiên cứu của Cuckle trong sàng lọc trước sinh hội chứng Down

Để tăng hiệu quả của việc tính nguy cơ, chúng tôi sử dụng kết quả nghiên cứu của Cuckle [5],[6] dựa trên phương pháp phân tích meta với các trị trung bình đều được đưa về dạng bội số trung vị (MoM) ở tuần thai tương ứng và giá trị log10 của chúng được dùng trong tính toán.

Bảng 2.4. Trị số trung bình (MoM) trong trường hợp hội chứng Down và độ lệch chuẩn (log10) của các chỉ số huyết thanh trong trường hợp Down và trường hợp bình thường

Chỉ số	Hội chứng Down		Độ lệch chuẩn ($\log_{10}$) ở thai kỳ bình thường
	Trị trung bình (MoM)	Độ lệch chuẩn ($\log_{10}$)	
AFP	0,73	0,181	0,165
hCG	2,02	0,282	0,247
uE3	0,73	0,182	0,138

Trị trung bình (MoM) của thai kì bình thường được lấy bằng 1,0 hay bằng 0 với $\log_{10}$.

Bảng 2.5. Hệ số tương quan giữa các chỉ số huyết thanh trong trường hợp hội chứng Down và trường hợp thai kỳ bình thường

Các chỉ số	Hội chứng Down	Thai kì bình thường
AFP & hCG	- 0,008	0,122
AFP & uE3	0,366	0,210
uE3 & hCG	- 0,225	- 0,092

2.3.10. Phương pháp tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Edwards

Bảng 2.6. Bội số trung vị (MoM) và độ lệch chuẩn (log10) của các chỉ số huyết thanh trong trường hợp hội chứng Edwards và trường hợp bình thường

Chỉ số	Thể ba nhiễm 18		Độ lệch chuẩn ($\log_{10}$) ở thai kỳ bình thường
	Trị trung bình (MoM) ($\log_{10}$)	Độ lệch chuẩn ($\log_{10}$)	
AFP	-0,1970	0,2239	0,1976
hCG	-0,4396	0,2419	0,3772
uE3	-0,3991	0,1437	0,2938

Bảng 2.7. Hệ số tương quan giữa các chỉ số huyết thanh trong trường hợp hội chứng Edwards và trường hợp thai kỳ bình thường

Các chỉ số	Hội chứng Down	Thai kì bình thường
AFP & hCG	0,0338	0,0314
AFP & uE3	0,2321	0,2501
uE3 & hCG	- 0,2122	0,0944

Sử dụng các thông số trị trung bình, độ lệch chuẩn và hệ số tương quan của các chỉ số AFP, uE3 và hCG trong trường hợp thai nhi mắc hội chứng Edwards trong nghiên cứu của Palomaki và cộng sự (1995) [8] để tính nguy cơ (bảng 2.6, bảng 2.7), các giá trị của nhóm bình thường được lấy từ nghiên cứu của Wald và cộng sự (1992) [33] .

2.4. Cách tính nguy cơ

Việc tính nguy cơ sinh con mắc trisomy được tính theo các bước sau

Bước 1: *Tính nguy cơ nền*

Bước 2: *Tính nguy cơ theo các chỉ số huyết thanh của AFP, uE3 và hCG*

Bước 3: *Tính nguy cơ kết hợp để tính nguy cơ cuối cùng thai nhi mắc hội chứng Down*

Nguy cơ kết hợp = Nguy cơ nền x nguy cơ theo các chỉ số huyết thanh

2.5. Ngưỡng nguy cơ (risk cut-off)

Hội chứng Down

Ngưỡng nguy cơ ≥1/250 được sử dụng với tỷ lệ phát hiện là 60% và tỷ lệ dương tính sai là 5% [3],[16],[22].

Hội chứng Edwards

Ngưỡng nguy cơ ≥1/150 được sử dụng với tỷ lệ phát hiện là 77% và tỷ lệ dương tính sai là 0,3% [21].

2.6. Tính nguy cơ mắc khuyết tật của ống thần kinh

2.6.1. Chỉ số huyết thanh được sử dụng

AFP huyết thanh mẹ được sử dụng trong sàng lọc các trường hợp bất thường số lượng NST 21, 18 trong quý hai của thai kỳ cũng được sử dụng để sàng lọc KTOTK [7].

2.6.2. Thời điểm sàng lọc

Thời điểm sàng lọc các KTOTK được thực hiện từ tuần thứ 16 đến 18 của thai kỳ, tuy nhiên việc sàng lọc có thể được thực hiện trong giới hạn rộng hơn từ 15 đến 22 tuần.

2.6.3. Ngưỡng nguy cơ (Risk cut-off)

Ngưỡng nguy cơ căn cứ trên chỉ số AFP huyết thanh mẹ ở quý II của thai kỳ cho KTOTK là 2 MoM đối với trường hợp đơn thai [4],[20]. Đối với các trường hợp song thai chúng tôi sử dụng ngưỡng nguy cơ là 4 MoM [7].

Trường hợp mẹ bị đái tháo đường, chúng tôi sử dụng MoM sau khi đã hiệu chỉnh cân nặng như ở những sản phụ không bị đái tháo đường [30].

2.7. Xử lý kết quả nghiên cứu.

Kết quả phân tích nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down, hội chứng Edwards và KTOTK của phần mềm "nội bộ" được so sánh với kết quả tách từ file dữ liệu phân tích nguy cơ của phần mềm Prisca trên hệ thống sinh hóa miễn dịch tự động Immulite 2000 do đơn vị sàng lọc trước sinh của Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

Kết quả nghiên cứu được so sánh bằng test phi tham số (non parametric methods) dựa vào dấu hiệu (sign test) [36], trong đó:

r: tổng dấu (+); s: tổng dấu (-) và n = r + s

và giá trị k được tra trong bảng giá trị tối thiểu (critical values) với p=0,05

3. THIẾT KẾ PHẦN MỀM "NỘI BỘ"

Mở một tệp bảng tính của Excel, Microsoft Office 2007, trong tệp gồm 3 bảng tính với 3 chức năng: (1) Tính nguy cơ "Risk"; (2) Cơ sở dữ liệu "Data" và (3) Lưu trữ thông tin "Save". Bảng tính nguy cơ và bảng lưu trữ thông tin đều được khóa bởi password ở những vị trí cần thiết, bảng tính cơ sở dữ liệu được khóa hoàn toàn bởi password.

3.1. Bảng tính nguy cơ "Risk"

3.1.1. Phần chung:

Được thiết kế để người sử dụng nhập các thông tin vào ô quy định gồm: (1) Ngày đánh giá; (2) Họ và chữ lót của mẹ; (3) Tên mẹ; (4) Địa chỉ; (5) Điện thoại; (6) Ngày sinh; (7) Trọng lượng sản phụ (kg); (8) Đã có con bị Down trong lần sinh trước (Có: C; Không: K); (8) Tiền sử sinh con mắc hội chứng Edwards (C: có ; K: không).

Phía trên có hàng trống để người sử dụng có thể điền tên của bệnh viện hoặc phòng khám và địa chỉ, số điện thoại liên lạc. Phía dưới có hàng trống để điền tên của người sử dụng.

3.1.2. Phần nhập kết quả siêu âm

Người sử dụng sẽ nhập: (1) Ngày siêu âm đo BPD; (2) Tình trạng song thai hay đơn thai; (3) Đường kính lưỡng đỉnh (BPD).

3.1.3. Phần nhập kết quả xét nghiệm test bộ ba (triple test)

Người sử dụng sẽ nhập: (1) Ngày thực hiện; (2) Trình trạng hút thuốc (Có: C; Không: K); (3) Tình trạng mẹ bị đái tháo đường phụ thuộc Insulin (Có: C; Không: K); (4) Nồng độ AFP (IU/mL); (5) Nồng độ hCG (mIU/mL); (6) Nồng độ uE3 (ng/mL).

3.1.4. Phần tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down (trisomy 21)

Các kết quả trong mục này được tính tự động trên bảng tính "data" sau đó kết quả được link tới ô tương ứng trên bảng tính "risk", trên phần này sẽ hiển thị các mục: (1) Ngày sinh dự kiến (+/- 5 ngày); (2) Tuổi mẹ đến lúc sinh; (3) Tuổi thai; (4) Nguy cơ nền (theo tuổi mẹ, tuổi thai và tiền sử) 1/x; (5)Nguy cơ theo AFP - hCG - uE3; (6) Nguy cơ kết hợp T21; (7) Chỉ định lấy nước ối.

3.1.5. Nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Edwards

Các kết quả trong mục này được tính tự động trên bảng tính "data" sau đó kết quả được link tới ô tương ứng trên bảng tính "risk", trên phần này sẽ hiển thị các mục: (1) Nguy cơ nền (theo tuổi mẹ, tuổi thai và tiền sử); (2) Nguy cơ theo AFP - hCG - uE3; (3) Nguy cơ kết hợp; (4) Chỉ định lấy nước ối: dùng ngưỡng 1/150.

3.1.6. Nguy cơ mắc khuyết tật của ống thần kinh

Các kết quả trong mục này được tính tự động trên bảng tính "data" sau đó kết quả được link tới ô tương ứng trên bảng tính "risk", trên phần này sẽ hiển thị các mục: (1) AFP theo MoM; (2) Nguy cơ mắc khuyết tật của ống thần kinh (ngưỡng 2MoM).

3.1.7. Phần kết luận và tư vấn

Phần kết luận cho khả năng thai nhi mắc hội chứng Down và hội chứng Edwards: phụ thuộc vào nguy cơ kết hợp mà kết luận sẽ xuất hiện tự động với nội dung: (1) Nguy cơ thấp; (2) Tăng nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down (hoặc hội chứng Edwards).

Phần kết luận cho khả năng thai nhi mắc khuyết tật hở của ống thần kinh: phụ thuộc vào nguy cơ kết hợp mà kết luận sẽ xuất hiện tự động với nội dung: (1) Có nguy cơ thấp thai nhi bị khuyết tật hở của ống thần kinh; (2) Có nguy cơ cao thai nhi bị khuyết tật hở của ống thần kinh.

Phần tư vấn được để trống để bác sĩ tư vấn các thông tin cần thiết cho sản phụ.

3.1.8. Các macro

Trên 2 hàng đầu tiên của bảng tính nguy cơ, chức năng lập macro của Excel được sử dụng để tạo nên các hộp **LƯU:** tự động chuyển thông tin của sản phụ qua bảng lưu; hộp **IN:** in kết quả để trả sản phụ và hộp **XÓA**: xóa thông tin của sản phụ trước đó để nhập mới.

3.2. Bảng dữ liệu "Data"

Thực hiện các tính toán dựa trên các thông tin của sản phụ được nhập trên bảng tính nguy cơ. Các thuật toán được thực hiện dựa trên các kết quả nghiên cứu đã được công bố. Bảng được khóa toàn bộ.

3.3. Bảng lưu "Save"

Bảng lưu dùng để lưu kết quả của tất cả sản phụ, bao gồm tất cả các thông tin có trên bảng tính nguy cơ.

3.4. Bảng hướng dẫn "Help"

Hướng dẫn các cài đặt cần thiết để đảm bảo tính ổn định trong quá trình chạy phần

mềm "in-hourse" khi sử dụng Excel 3 hoặc Excel 7.

3.5. Cách tính nguy cơ trên phần mềm "nội bộ"

Để tính nguy cơ cho mỗi sản phụ, người sử dụng thực hiện các bước sau:

- **Bước 1:** Mở chương trình Excel của Microsoft Office.
- **Bước 2:** Bấm vào nút XOA trên 3 hàng đầu tiên của bảng để xóa các thông tin của sản phụ đã tính trước đó.
- **Bước 3:** Nhập các thông tin theo yêu cầu vào các ô. Kết quả tính nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down, hội chứng Edwards, nguy cơ mắc KTOTK và các thông tin về ngày sinh dự kiến, tuổi mẹ đến lúc sinh, tuổi thai và phần kết luận sẽ tự động xuất hiện.
- **Bước 4:** Điền vào ô tư vấn những thông tin cần thiết cho sản phụ.
- **Bước 5:** Bấm nút IN trên 3 hàng đầu tiên của bảng để in kết quả.
- **Bước 6:** Bấm nút LUU trên 3 hàng đầu tiên của bảng để lưu kết quả.
- **Bước 7:** Trên bảng lưu, chọn ô kế tiếp trên cột A, nhấp chuột phải, chọn "past special" trên Menu, chọn "transpose" và bấm OK để lưu toàn bộ thông tin.

4. KẾT QUẢ

4.1. Tính nguy cơ thai nhi mắc trisomy

4.1.1. Trường hợp sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ mắc trisomy 21 với ngưỡng từ 1/251 đến 1/350.

49 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ mắc trisomy 21 với ngưỡng nguy cơ từ 1/251 – 1/350 được so sánh với kết quả sàng lọc của phần mềm "nội bộ".

Kết quả: r(+) = 41 ; s(-) = 8; n = 49, k = 19 > 8

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm ($p<0,05$), trong đó phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho nguy cơ thấp hơn. Trong đó 1 trường hợp cho nguy cơ >1/250.

4.1.2. Trường hợp sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ cao mắc trisomy 21 nhưng kết quả chẩn đoán không mắc trisomy 21

35 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ cao mắc trisomy 21 với ngưỡng nguy cơ >1/250. Sau đó sản phụ được lấy nước ối để chẩn đoán và cho kết quả thai nhi không mắc trisomy 21.

Kết quả: r(+) = 25 ; s(-) = 9; n = 34, k = 10 > 9

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm ($p<0,05$) và phần mềm "nội bộ" cho nguy cơ thấp hơn. Trong đó, 10/35 trường hợp có kết quả <1/250 chiếm 29%.

4.1.3. Trường hợp sàng lọc trisomy 18 với ngưỡng thấp hơn 1/150

45 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ mắc trisomy 18 với ngưỡng nguy cơ <1/150 được so sánh với kết quả sàng lọc của phần mềm "nội bộ".

Kết quả: r(+) = 14 ; s(-) = 31; n = 45, k = 15 > 14

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm ($p<0,05$), trong đó phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho kết quả nguy cơ cao hơn.

4.1.4. Trường hợp sàng lọc trisomy 18 với ngưỡng cao hơn 1/250

38 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ mắc trisomy 18 với ngưỡng nguy cơ cao hơn 1/250 được so sánh với kết quả sàng lọc của phần mềm "nội bộ".

Kết quả: r(+) = 16 ; s(-) = 22; n = 38, k = 12 < 16

Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm ($p>0,05$), phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho nguy cơ cao hơn. Trong 21 trường hợp được phần mềm Prisca tính nguy cơ >1/150 có 4 trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính nguy cơ <1/150.

4.2. Tính nguy cơ thai nhi mắc khuyết tật hở của ống thần kinh

4.2.1. Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP cao hơn 1,50.

Trong sàng lọc KTOTK, 16 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá có ngưỡng MoM của AFP >1,5 được so sánh với kết quả sàng lọc của phần mềm "nội bộ".

Kết quả: r(+) = 15 ; s(-) = 1; n = 16, k = 3 > 1

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm (p<0,05), trong đó phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho kết quả nguy cơ cao hơn so với phần mềm Prisca.

4.2.2. Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP thấp hơn 1,5

Trong sàng lọc KTOTK, 47 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá có ngưỡng MoM của AFP <1,5 được so sánh với kết quả sàng lọc của phần mềm "nội bộ".

Kết quả: r(+) = 15 ; s(-) = 27; n = 43, k = 14 < 15

Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm (p>0,05).

5. BÀN LUẬN

5.1. Tính nguy cơ thai nhi mắc trisomy

5.1.1. Sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ mắc hội chứng Down với ngưỡng từ 1/251 đến 1/350.

Có 49 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ mắc trisomy 21 với ngưỡng từ 1/251 – 1/350, sở dĩ chúng tôi chọn ngưỡng này vì các trường hợp có nguy cơ <1/350 chắc chắn phần mềm "nội bộ" cũng cho nguy cơ thấp. Đánh giá các trường hợp có nguy cơ thấp nhưng cận ngưỡng 1/250 sẽ cho phép so sánh tốt hơn. Sự khác biệt giữa hai phần mềm là có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Chỉ có 1 trường hợp được tính nguy cơ là 1/304 đối với phần mềm Prisca nhưng phần mềm "nội bộ" nguy cơ này là 1/162 tuy nhiên chúng tôi không có điều kiện thẩm tra lại trường hợp này, 48 trường hợp còn lại đều có nguy cơ thấp (<1/250) chiếm 98% nhưng nguy cơ được tính bởi phần mềm "nội bộ" có xu hướng thấp hơn so với phần mềm Prisca (83,7%).

5.1.2. Sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ cao hội chứng Down nhưng kết quả chẩn đoán không mắc hội chứng Down

Căn cứ trên 35 trường hợp lấy ối để chẩn đoán thai nhi mắc trisomy 21 do được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ cao mắc trisomy 21 với ngưỡng nguy cơ >1/250. Kết quả cho thấy tất cả thai nhi đều không mắc trisomy 21. Khi đánh giá bằng phần mềm "nội bộ" chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Phần mềm "nội bộ" cho nguy cơ thấp hơn so với phần mềm Prisca (73%), đặc biệt có 10/35 trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính là nguy cơ <1/250 (29%) có nghĩa là nếu được sàng lọc với phần mềm "nội bộ" những sản phụ này đã tránh được chỉ định lấy ối để chẩn đoán.

Mặc dù chỉ có một số ít trường hợp được chẩn đoán xác định nhưng với kết quả trên cho thấy phần mềm "nội bộ" cho phép giảm chỉ định lấy ối để chẩn đoán, đồng nghĩa với việc giảm nguy cơ sẩy thai do biện pháp chẩn đoán can thiệp và giảm chi phí.

5.1.3. Sàng lọc hội chứng Edwards với ngưỡng thấp hơn 1/150

Chọn ngẫu nhiên trong file dữ liệu 45 trường hợp được phần mềm Prisca của Immulite đánh giá nguy cơ mắc trisomy 18 với ngưỡng nguy cơ <1/150. Kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Nguy cơ được tính bởi phần mềm "nội bộ" có xu hướng cao hơn (69%), tuy nhiên không có trường hợp nào cho nguy cơ >1/150.

5.1.4. Sàng lọc hội chứng Edwards với ngưỡng cao hơn 1/250

Do số lượng sản phụ có nguy cơ thai nhi mắc trisomy 18>1/150 không nhiều, chúng tôi chọn 38 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá thai có nguy cơ mắc trisomy 18 với ngưỡng >1/250 để so sánh với kết quả của phần mềm "nội bộ". Kết quả không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p>0,05), tuy nhiên phần mềm "nội bộ" có xu

hướng cho nguy cơ cao hơn (58%). Trong 21 trường hợp được phần mềm Prisca tính nguy cơ >1/150 có 4 trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính <1/150 (19%). Chúng tôi không có điều kiện kiểm tra kết quả chẩn đoán nên nếu đây là những trường hợp thai nhi được chẩn đoán không mắc trisomy 18 sẽ làm tăng giá trị của phần mềm trong sàng lọc.

5.2. Tính nguy cơ thai nhi mắc khuyết tật hở của ống thần kinh

5.2.1. Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP cao hơn 1,5

Do số lượng sản phụ có nguy cơ thai nhi mắc KTOTK với ngưỡng MoM của AFP ≥2 không nhiều nên chúng tôi chọn 16 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá có ngưỡng MoM của AFP >1,5 để so sánh với kết quả của phần mềm "nội bộ". Kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho nguy cơ cao hơn so với phần mềm Prisca (94%). Trong số 12 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá có MoM AFP<2 có 1 trường hợp được phần mềm "nội bộ" đánh giá >2 (8%). Tuy nhiên chúng tôi không có điều kiện theo dõi sau sinh trường hợp này.

5.2.2. Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP thấp hơn 1,5

Với 47 trường hợp được phần mềm Prisca đánh giá có ngưỡng MoM của AFP <1,5. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm. Tuy nhiên phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho nguy cơ cao hơn so với phần mềm Prisca (63%).

Nhìn chung tuy không có nhiều điều kiện để đối chiếu kết quả sàng lọc và kết quả chẩn đoán. Căn cứ trên phương pháp thiết lập các thuật toán để tính nguy cơ thai nhi mắc trisomy 21 hoặc 18, khuyết tật hở của ống thần kinh và so sánh kết quả tính nguy cơ của phần mềm "nội bộ" với phần mềm Prisca. Chúng tôi tin rằng phần mềm "nội bộ" hội đủ các điều kiện để có thể đưa vào áp dụng trong thực tế.

6. KẾT LUẬN

6.1. Phần mềm "nội bộ"

Phần mềm "nội bộ" có đủ các tính năng tính toán, in ấn kết quả, lưu trữ thông tin và dễ dàng hiệu chỉnh các thông số trong quá trình sử dụng.

Nhờ tận dụng ưu thế của các tính năng lồng ghép trong chương trình Excel của Microsoft Office nên có những ưu điểm: Dễ cài đặt; Dễ sử dụng; Dễ cập nhật, sửa đổi; Dễ thực hiện nghiên cứu và công khai hóa thông tin.

Một số nhược điểm của phần mềm "nội bộ": Kém hấp dẫn; Thao tác sao lưu mất nhiều thời gian hơn; Có khả năng bị sửa đổi ngoài ý muốn.

6.2. So sánh kết quả tính nguy cơ của phần mềm "nội bộ" với phần mềm Prisca

Trường hợp sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ mắc trisomy 21 với ngưỡng từ 1/251 đến 1/350: 49 trường hợp, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Phần mềm "nội bộ" cho 98% trường hợp có nguy cơ thấp (<1/250). Nguy cơ được tính có xu hướng thấp hơn so với phần mềm Prisca (83,7%).

Trường hợp sàng lọc cho kết quả thai có nguy cơ cao mắc trisomy 21 nhưng kết quả chẩn đoán không mắc trisomy 21:35 trường hợp, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Phần mềm "nội bộ" cho nguy cơ thấp hơn so với phần mềm Prisca (73%), 29% trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính là nguy cơ <1/250.

Trường hợp sàng lọc trisomy 18 với ngưỡng thấp hơn 1/150: 45 trường hợp, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p<0,05). Nguy cơ được tính bởi phần mềm "nội bộ" có xu hướng cao hơn (69%). *Trường hợp sàng lọc trisomy 18 với ngưỡng cao hơn 1/250:* 38 trường hợp, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm (p>0,05). Phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho nguy

cơ cao hơn (58%). Trong số 21 trường hợp được phần mềm Prisca tính nguy cơ >1/150 có 4 trường hợp được phần mềm "nội bộ" tính <1/150 chiếm (19%).

Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP cao hơn 1,50: 16 trường hợp, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phần mềm (p<0,05). Phần mềm "nội bộ" có xu hướng cho kết quả nguy cơ cao hơn so với phần mềm Prisca (94%).

Trường hợp sàng lọc khuyết tật hở của ống thần kinh với ngưỡng MoM AFP thấp hơn 1,5: 47 trường hợp, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 phần mềm. Nguy cơ được tính bởi phần mềm "nội bộ" có xu hướng cao hơn so với phần mềm Prisca (63%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. ACOG Practice Bulletin (2007) Clinical Management Guidelines for Obstetrician – Gynecologists. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities. No 77.
2. Alicja R. , Nicholas J. W., Wayne H., Allan K. H. (2002) Influence of maternal smoking on the birth prevalence of Down syndrome and on second trimester screening performance. *Prenat Diagn.* 22, 893 - 897.
3. American College of Medical Genetics (2006) Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories.
4. Bradlley L.A., Palomaki G.E., McDowell G.A. (2005) Technical Standards and guidelines: Prenatal screening for open neural tube defects. *ACMG Standards and Guideline. Genetics in Medicine.* 7, 355-369
5. Cuckle H. (1995) Improved parameters for risk estimation in Down's syndrome screening. *Prenat. Diagn.* 15, 1057-1065
6. Cuckle H., Benn P., Wright D. (2005) Down Syndrome Screening in the First and/or Second Trimester: Model Predicted Performance Using Meta-Analysis Parameters. *Seminar Perinatology.* 29, 252-257
7. Deborah A. D. (2004) Second trimester maternal serum screening for fetal open neural tube defects and aneuploid. *Genetics in Medicine.*Vol 6, No 6, 540-541.
8. Glenn E. P., James E. H., George J. K., Nicholas J. W., Anne K., Dagmar H., Manpred H., David A. L., Anne M. S., Philip W., Jacob A. C., Devereux N. S., Iriam G. B., Lois H., Dicker M., Rachel F. (1995) Risk-based prenatal screening for Trisomy 18 using alpha-fetoprotein, Unconjugated oestriol and human Chorionic gonadotropin. *Prenat. Diagn.,* vol. 15, 713-723.
9. Haddow J.E., Palomaki G.E., Knight G.J., Williams J., Pulkkinen A., Canick J.A. (1992) Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N. Eng. J. Med.* 327, 588– 593.
10. Hadlock F. P., Deter R. L., Harrist R. B., Park S. K**.** (1982) Fetal biparietal diameter: a critical re-evaluation of the relationship to menstrual age by means of real time ultrasound. *J. Ultrasound Med.* 1, 97-104.
11. Hetch CA, Hook EB. (1994) The imprecision in rates of Down syndrome by 1-year maternal age intervals. A critical analysis of rates used in biochemical screening. *Prenat. Diagn.* 14, 739 - 738
12. Hook E.B., **Cross** P.K., Schreinemachers D.M. (1983) Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *JAMA,* 249, 2034-2038.
13. Hook E.B., Hamerton J.L. (1977) The frequency of chromosome abnormalities detected in consecutive newborn studiesdifferences between studies-results by sex and by severity of phenotypic involvement. *Population Cytogenetics:Studies in Humans, New York: Academic Press,* 63-79
14. Lai K. W., Lim M., Eko S. (2010) Automated Trisomy 21 Assessment Based on Maternal Serum Markers Using Trivariate Lognormal Distribution. Issue 8, Volume 9,844-853.
15. Li W.K.W. (1990) Bivariate and trivariate analysis in flow cytometry: phytoplankton size and fluorescence. *Limnology and Oceanography*. 35(6). 1356-1368.
16. Muller F. , Forestier F., Dingeon B. (2002) Second trimester trisomy 21 maternal serum marker screening. Results of a countrywide study of 854 902 patients. *Prenat Diagn*. 22, 925–929.
17. Mutton D.E., Alberman E., Hook E.B. (1996) Cytogenetic and epidemiological findings in Down's syndrome. England and Wales 1989 to 1993. *J. Med. Gent.,* 33, 387-394.

18. Nicholas J. W., Howard C., Tiesheng W., Lynne G. (1998) Maternal serum unconjugated oestriol and human chorionic gonadotrophin levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's syndrome. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. Vol. 98, 905-908.
19. Nicolaides K.H. (2004) Patient-specific risk for chromosomal defects. The $11\text{-}13^{+6}$ weeks scan. *Fetal Medicine Foundation,* 13 - 21.
20. Norem C.T., Schoen E.J., Walton D.L., Krieger R.C., O'Keefe J., To T.T., Ray G.T. (2005) Routine ultrasonography compared with maternal serum alpha-fetoprotein for neural tube defect screening. *Obstetrics & Gynecology.* 106, 747-752.
21. Palomaki G.E., Neveux L.M., Haddow J. E., Knight G.J. (2003) Maternal serum–integrated screening for trisomy 18 using both first- and second-trimester markers. *Prenat Diagn.* 23, 243 - 247.
22. Prenatal screening tests for trisomy 21 (Down syndrome), trisomy 18 (Edwards syndrome) and neural tube defects. (1991) *A Guideline developed by the Human Genetic Society of Australasia (HGSA) and the Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists (RANZCOG).* 1st Endorsed: August 1991 Current: July 2007 Review: March 2010
23. Reynolds T.M., Penney M.D. (1990) The mathematical basis of multivariate risk screening with special reference to screening for Down's syndrome associated pregnancy. *Clin Chem* 27, 452 - 458.
24. Rice J.D., McIntosh S.F., Halstead A.C. (2005) Second-trimester maternal serum screening for Down syndrome in in vitro fertilization pregnancies. *Prenat Diagn.* 25(3), 234 - 238.
25. Snijders R.J.M., Sundberg K., Holzgreve W., Henry G., Nicolaides K.H. (1999). Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrsound Obstet Gynecol*. 13. 167-170
26. Snijders R.J.M. , Sebire N.J. , Nicolaides K.H. (1995) Maternal age and Gestational age - specific risk for chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther*. 10, 356 – 367.
27. SOGC Clinical Pratice Guidelines. (2001) Canadian guidelines for prenatal diagnosis genetic indications for prenatal diagnosis. No. 105.
28. Technical Standards and Guidelines. (2006) Prenatal screening for Down syndrome. *American College of Medical Genetics, Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories*, DS3.5.1
29. The Executive of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (2007) Mid-Trimester Amniocentesis Fetal Loss Rate. *J Obstet Gynaecol Can*. 29(7), 586 – 590
30. Ulrich S., Iris B. (2001) Biochemical screening for chromosomal disorders and neural tube defects (NTD): is adjustment of maternal alpha-fetoprotein (AFP) still appropriate in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Prenat. Diagn.*. 21. , 383-386.
31. Wald N. (2000) Down syndrome. Antenatal & neonatal screening. Edited by Nicholas Wald & Ian Leck. 2nd edition. *Oxford University Press*, 85-115.
32. Wald N.J., Kennard A., Densem J., Cuckle H.S., Chard T., Butler L. (1992) Antenatal maternal serum screening for Down's syndrome: results of a demonstration project. *BMJ,* 305, 391– 394.
33. Wald, N.J., Cuckle, H.S., Densem, J.W., Kennard, A.,Smith, D. (1992) Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 99, 144-149.
34. Watt H.C., Wald N.J., Smith D., Kennard A., Densem J. (1996) Effect of allowing for ethnic group in prenatal screening for Down's syndrome. *Prenat. Diagn.* Vol 16, 691-698.
35. Wayne H., Alicja R., Nicholas J. W. (2004) Second-trimester prenatal screening markers for Down syndrome in women with insulin-dependent diabetes mellitus. *Prenat. Diagn.* 24, 804–807.
36. Ngô Như Hòa (1982) Thống kê trong nghiên cứu y học, tập II. Nhà xuất bản Y học. 1982. 336-339.
37. Đỗ Thị Thanh Thủy (2010) Xác định giá trị trung vị của xét nghiệm bộ ba AFP, hCG và uE3 ứng dụng trong tầm soát trước sinh một số dị dạng bẩm sinh. *Luận án Tiến sĩ Y học. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh*, 70 -71.