

ĐÁNH GIÁ SỰ SAI LỆCH KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM DOUBLE TEST VÀ TRIPLE TEST TRONG CÁC ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN MẪU KHÁC NHAU

Lê Thị Mai Dung*, Mai Thị Đoan Trang*, Văn Hy Triết*

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: xác định tỷ lệ nguy cơ hóa sinh thay đổi trong xét nghiệm Double test ở các điều kiện bảo quản mẫu khác nhau thông qua nồng độ các dấu ấn hóa sinh free beta-hCG, PAPP-A. Đánh giá sự thay đổi nồng độ của AFP, beta-hCG và uE3 trong xét nghiệm Triple test ở các thời gian lưu mẫu khác nhau. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** đối tượng gồm 15 mẫu huyết thanh của 15 thai phụ mang thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày. Xác định nồng độ free beta-hCG và PAPP-A ở các điều kiện: tách huyết thanh và định lượng trong 12 giờ; bảo quản 2-8°C trong 96 và 120 giờ (tách huyết thanh và không tách huyết thanh). Kỹ thuật miễn dịch định lượng trên hệ thống Immulite 2000 và 1000, phần mềm tính nguy cơ Prisca. Nghiên cứu mô tả, cắt ngang, phân tích so sánh; Xác định giá trị trung vị, so sánh nồng độ AFP, Beta-hCG và uE3 từ 818 kết quả triple test của phụ nữ mang thai từ 15 đến 21 tuần 6 ngày với thời gian lưu mẫu từ 24 giờ đến 96 giờ. Kỹ thuật miễn dịch định lượng trên hệ thống Immulite 2000, phần mềm tính nguy cơ Prisca. Phân tích số liệu trên phần mềm SPSS. Nơi thực hiện Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh. **Kết quả:** Double test: so sánh với mẫu bảo quản 2-7°C với mẫu bảo quản 12 giờ ở nhiệt độ phòng thì kết quả là: Sau 96 giờ: free beta-hCG và PAPP-A không có sự thay đổi giá trị trung vị nồng độ; nguy cơ hóa sinh giảm 10% ở mẫu tách và không tách huyết thanh. Sau 120 giờ: trung vị nồng độ PAPP-A tuần thai 11 tăng 16,1 % (mẫu tách huyết thanh); tăng 3,5% (không tách huyết thanh); Trung vị nồng độ Free beta-hCG không thay đổi với tất cả tuần thai. Nguy cơ hóa sinh lần lượt giảm 15% ở mẫu tách huyết thanh và 11% ở mẫu không tách huyết thanh. Triple test: nồng độ AFP giảm với các mẫu lưu trữ 48 giờ (21,4%), giảm ở 72 giờ (23%) và tăng khi lưu trữ 96 giờ (31,9%). Nồng độ Beta-hCG tăng dần theo thời gian lưu trữ mẫu 48 giờ (38%), 72 giờ (37,2%), 96 giờ (47,9%). Nồng độ uE3 tăng trong mẫu lưu 48 giờ (41,9%), không thay đổi ở 72 giờ và 96 giờ, tuy nhiên sự thay đổi chỉ xảy ra ở một số tuần thai. **Kết luận:** mẫu thử được bảo quản ở 2-8°C trong 96 giờ không làm thay đổi giá trị nồng độ free beta-hCG, PAPP-A nhưng làm giảm 10% giá trị nguy cơ hóa sinh. Khi bảo quản mẫu 120 giờ ở 2-8°C nồng độ free beta-hCG không thay đổi, trung vị nồng độ PAPP-A tăng ở tuần thai thứ 11 cao nhất là 16,1% và nguy cơ sinh hóa giảm khoảng 15%. Thời gian lưu mẫu 48 giờ dẫn đến nồng độ AFP giảm và uE3 tăng. Lưu mẫu 72 giờ và 96

giờ làm tăng nồng độ AFP. Nồng độ Beta-hCG tăng dần theo thời gian lưu trữ mẫu 48,72,96 giờ.

SUMMARY

EVALUATING DEVIATIONS IN DOUBLE TEST AND TRIPLE TEST RESULTS UNDER DIFFERENT SAMPLE STORAGE CONDITIONS

Objective: To determine the rate of technical deviation in biochemical risk calculated by Double test under different sample storage conditions using the concentrations of biochemical markers free beta-hCG and PAPP-A; To evaluate the change in the concentrations of AFP, beta-hCG, and uE3 determined by triple test at different storage periods. **Subjects & methods:** The descriptive, comparative cross-sectional study was conducted at Ho Chi Minh City University of Medicine and Pharmacy. Double test: Serum samples were obtained from 15 women 11 – 13 weeks into their pregnancies who underwent first-trimester prenatal screening. Free beta-hCG and PAPP-A concentrations were determined under the following storage conditions: separated and analyzed within 12 hours; stored at 2-8°C for 96 hours and 120 hours (with and without serum separation). Triple test: Using retrospective data from 818 pregnant women at 15-21 weeks and 6 days of gestation, the concentrations of AFP, beta-hCG, and uE3 were compared among four different sample groups with storage times of 24, 48, 72, and 96 hours. Quantitative immunoassays were performed on Immulite 2000 and 1000 systems, and the risks were calculated using PRISCA 5.0. Further data analysis was performed on SPSS. **Results:** Double test: Compared to samples analyzed within 12 hours at room temperature, we observed the following in samples stored at 2-7 °C. After 96 hours: the median free beta-hCG and PAPP-A concentrations showed no statistically significant difference; the calculated biochemical risks were 10% lower in both separated and unseparated samples. After 120 hours: the median PAPP-A concentration at 11 weeks of gestation was 16.1% higher in serum separated samples and 3.5% higher in unseparated samples; no difference was observed in the median free beta-hCG concentration across all gestational ages. The biochemical risk was 15% and 11% lower in separated and non-separated samples, respectively. **Triple test:** Compared to 24-hour storage, AFP concentration was 21.4% lower at 48-hour storage, 23% lower at 72-hour storage, and 31,9% higher at 96-hour storage. Beta-hCG concentration showed gradually increasing values with longer storage times: 38% higher at 48 hours, 37.2% higher at 72 hours, and 47.9% higher at 96 hours. uE3 concentration was 41.9% higher at 48 hours and unchanged at 72 hours and 96 hours. However, this change only occurred at a few specific

*Đại Học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
 Chịu trách nhiệm chính: Lê Thị Mai Dung
 Email: lethimaidung@ump.edu.vn
 Ngày nhận bài: 10.9.2021
 Ngày phản biện khoa học: 10.11.2021
 Ngày duyệt bài: 16.11.2021

gestational weeks. **Conclusion:** Storing samples at 2-8°C for 96 hours did not alter free beta-hCG and PAPP-A concentrations; however, the calculated biochemical risk was lowered by 10%. When samples were stored for 120 hours at 2-8°C, the free beta-hCG concentration did not change, the median PAPP-A concentration was 16.1% higher at 11 weeks of gestation, and the biochemical risk was lowered by approximately 15%. A 48-hour storage time resulted in lower AFP and higher UE3 levels. Storage times of 72 hours and 96 hours increased AFP concentration. Beta-hCG concentration gradually increased with longer sample storage times at 48, 72, and 96 hours compared to 24 hours.

Keyword: Prenatal screening test, Double test, Triple test, biochemical risk change.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm sàng lọc trước sinh hội chứng Down cho phụ nữ mang thai gồm 2 giai đoạn: Double test (11 tuần đến 13 tuần 6 ngày) và Triple test (15 tuần đến 21 tuần 6 ngày). Mục đích của xét nghiệm là xác định tỷ lệ nguy cơ thai phụ sinh con bị hội chứng Down thông qua việc tính toán kết hợp các thông số dấu ấn hóa sinh, độ mờ da gáy (NT) và tuổi thai phụ. Xét nghiệm liên quan đến hội chứng Down bao gồm nhóm xét nghiệm sàng lọc và xét nghiệm chẩn đoán. Xét nghiệm sàng lọc được thực hiện trên số đông dân để tìm ra những thai phụ có nguy cơ cao mang thai hội chứng Down. Xét nghiệm chẩn đoán được thực hiện sau giai đoạn tầm soát và trên phụ nữ có kết quả nguy cơ cao. Lợi ích từ việc sàng lọc trên số đông thai phụ sẽ hạn chế rủi ro khi dùng các thủ thuật xâm lấn trong xét nghiệm chẩn đoán như sinh thiết gai nhau, chọc ối. Hiện nay chương trình sàng lọc hội chứng Down ở Việt Nam gồm hai bộ xét nghiệm Double test và Triple test. Việc thực hiện tính toán nguy cơ dựa trên các thông số tích hợp như tuổi mẹ, nồng độ hai dấu ấn Free β -hCG và PAPP-A (Double test) và ba dấu ấn Free β -hCG, uE3 và AFP (Triple test); độ mờ da gáy (NT), từ đó xác định nguy cơ thai nhi mắc hội chứng Down. Độ chính xác của kết quả phụ thuộc vào các thông số sàng lọc được tích hợp trên phần mềm tính nguy cơ trong đó dấu ấn hóa sinh là rất quan trọng. Kết quả nồng độ free beta-hCG, PAPP-A, beta hCG, uE3 và AFP có ảnh hưởng trực tiếp đến việc tính toán kết quả nguy cơ, khi nồng độ các chất thay đổi do việc lấy và bảo quản mẫu thử không đảm bảo sẽ ảnh hưởng đến giá trị nguy cơ sau cùng. Khi điều kiện thu nhận mẫu, bảo quản mẫu không được đảm bảo như: tách hoặc không tách huyết thanh, bảo quản ở nhiệt độ không thích hợp sẽ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Do đó cần thiết phải đưa ra các

khuyến cáo hay chính xác hơn là các quy định chặt chẽ về vấn đề bảo quản mẫu thử đối với xét nghiệm sàng lọc trước sinh hội chứng Down nhằm đem lại kết quả có độ tin cậy cao nhất. Mục tiêu nghiên cứu: *xác định tỷ lệ nguy cơ hóa sinh thay đổi trong xét nghiệm Double test ở các điều kiện bảo quản mẫu khác nhau thông qua nồng độ các dấu ấn hóa sinh free beta-hCG, PAPP-A. Đánh giá sự thay đổi nồng độ của AFP, beta-hCG và uE3 trong xét nghiệm Triple test ở các thời gian lưu mẫu khác nhau.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu cắt ngang, so sánh từng nhóm trong một mẫu nghiên cứu; Biến số chính: nồng độ free β -hCG (ng/ml), nồng độ PAPP-A (mUI/ml), AFP, beta-hCG và uE3, định lượng trên máy miễn dịch tự động IMMULITE 2000; biến số phụ: các thông số siêu âm chiều dài đầu mông (CRL - mm), đường kính lưỡng đỉnh (BPD - mm), độ mờ da gáy (NT - mm), tuần thai (tuần + ngày). Phương pháp thống kê: Sử dụng phép kiểm định Wilcoxon cho mẫu bắt cặp trong dữ liệu không phải phân phối chuẩn. Giấy phép y đức: Số 289/HĐĐĐ-ĐHYD. Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Đại Học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 12 năm 2020 đến tháng 8 năm 2021.

Đối tượng nghiên cứu: Double test: mẫu huyết thanh của 15 thai phụ mang thai từ 11 tuần đến 13 tuần 6 ngày. Triple test: kết quả xét nghiệm triple test của 818 thai phụ trên dữ liệu lưu trữ của phần mềm Prisca có tuần thai từ 15 tuần đến 21 tuần 6 ngày.

Tiêu chuẩn chọn mẫu: Được bác sĩ chỉ định làm xét nghiệm sàng lọc trước sinh hội chứng Down. Có đầy đủ các thông số siêu âm: chiều dài đầu mông (CRL), đường kính lưỡng đỉnh (BPD) và độ mờ da gáy (NT) do bác sĩ siêu âm cung cấp.

Tiêu chuẩn loại mẫu: Mẫu máu từ các thai phụ: đa thai, hút thuốc, tiểu đường và thụ tinh trong ống nghiệm, mẫu máu bị tiêu huyết, có chất chống đông, thời gian và cách thức bảo quản không đúng.

Cách tiến hành: Khai thác thông tin thai phụ được chỉ định làm xét nghiệm sàng lọc bao gồm tin thai phụ theo tờ khai thông tin: họ tên, ngày sinh, cân nặng, ngày lấy mẫu, ngày siêu âm...các thông tin hiệu chỉnh. Các thông số siêu âm: chiều dài đầu mông (CRL), đường kính lưỡng đỉnh (BPD), độ mờ da gáy (NT), tuần thai được bác sĩ siêu âm cung cấp qua kết quả siêu âm. Định lượng các dấu ấn hóa sinh trên các mẫu huyết thanh của thai phụ bao gồm free beta-hCG, PAPP-A, beta -hCG, AFP, uE3 theo kỹ

thuật miễn dịch sandwich tuân thủ các bước: Xây dựng đường chuẩn cho các xét nghiệm và hiệu chỉnh trên nguyên tắc: "Adjustment" tương tự như "2 point calibration". Thực hiện nội kiểm với huyết thanh kiểm tra của các hãng Randox, xây dựng lại khoảng tham chiếu nội kiểm cho máy Immulite 2000 bằng cách đo lặp lại 6 lần một ngày liên tục trong 10 ngày liên tiếp cho khoảng %CV nhỏ hơn khoảng %CV của nhà sản xuất cung cấp.

Bảo quản mẫu thử: mẫu thử cho nghiên cứu Double test chia làm 5 nhóm thực hiện: Nhóm 1- Mẫu tách huyết thanh và phân tích trong 12 giờ; Nhóm 2 - Mẫu tách huyết thanh và bảo quản (2-8°C) trong 96 giờ; Nhóm 3- Mẫu không tách huyết thanh và bảo quản (2 - 8°C) trong 96 giờ; Nhóm 4- Mẫu tách huyết thanh và bảo quản (2-8°C) trong 120 giờ; Nhóm 5- Mẫu không tách huyết thanh và bảo quản (2-8°C) trong 120 giờ. Thống kê kết quả nồng độ AFP, beta-hCG và uE3 của 818 thai phụ được chia thành 4 nhóm: Nhóm I: Thời gian lưu mẫu < 24 giờ; Nhóm II: Thời gian lưu mẫu từ 24 giờ đến dưới 48 giờ; Nhóm III: Thời gian lưu mẫu từ 48 giờ đến dưới 72 giờ; Nhóm IV: Thời gian lưu

mẫu từ 72 giờ đến dưới 96 giờ. Thiết bị và thuốc thử: máy miễn dịch tự động IMMULITE 2000 và IMMULINE 1000 và bộ thuốc thử của hãng Siemens. Mẫu huyết thanh kiểm tra Maternal Control của hãng Randox. Xử lý số liệu: thống kê kết quả và phân tích bằng phần mềm SPSS, sử dụng kiểm định phi tham số Wilcoxon cho Double test và Mann-Whitney cho Triple test (so sánh các trung vị cho phân phối không chuẩn). Chọn mức ý nghĩa thống kê là $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Phân bố tuổi mẹ và tuổi thai: Thai phụ dưới 35 tuổi chiếm 93,3% (Double test) và 88,75% (Triple test); trong đó nhóm thai phụ trên 35 tuổi chiếm tỷ lệ nhỏ.

Kết quả định lượng Free beta-hCG và PAPP-A ở từng điều kiện bảo quản mẫu khác nhau trong nghiên cứu Double test

Qui ước: Nhóm 1: định lượng ngay trong 12 giờ; Nhóm 2: tách huyết thanh bảo (2-8°C) trong 96 giờ; Nhóm 3: không tách huyết thanh bảo quản (2-8°C) trong 96 giờ; Nhóm 4: tách huyết thanh bảo quản (2-8°C) trong 120 giờ; Nhóm 5: không tách huyết thanh bảo quản (2-8°C) trong 120 giờ.

Bảng 1. So sánh nồng độ Free beta-hCG, PAPP-A giữa nhóm bảo quản 96 giờ và 120 giờ với nhóm bảo quản 12 giờ

Tuần thai	Nhóm	Free beta-hCG (ng/ml)		PAPP-A(mUI/ml)	
		Trung vị	Khoảng phân phối	Trung vị	Khoảng phân phối
Tuần 11	1	92,8	26,6 - 110	3,09	1,71-4,82
	2	70,5	28,5-174	3,67	1,7-5,07
	3	69,3	28,9-165	3,5	1,81-4,42
	4	76,5	26,7-177	3,59	1,95-5,49
	5	75,7	23,7-182	3,2	1,85-4,91
Tuần 12	1	60,75	29,1-92,7	3,95	1,28-7,19
	2	56	21,6-148	3,505	1,34-6,26
	3	59,15	21-150	3,75	1,28-6,62
	4	59,8	25,8-148	3,735	1,36-6,41
	5	61,25	26,9-150	3,525	1,22-7,53
Quý 1	1	64,1	26,6-110	3,29	1,28-7,19
	2	68,4	21,6-174	3,67	1,34-6,26
	3	67,9	21-165	3,74	1,28-6,62
	4	60,2	25,8-177	3,59	1,36-6,41
	5	64	23,7-182	3,4	1,22-7,53

Sự thay đổi nồng độ free beta-hCG và PAPP-A trong các điều kiện tách huyết thanh và không tách huyết thanh khi bảo quản (2 - 8°C) trong 96 giờ so với mẫu thực hiện ngay trong 12 giờ không có ý nghĩa thống kê cho tất cả tuần thai ($p > 0,05$).

Trong 120 giờ, nồng độ PAPP-A tăng đối với mẫu tách và không tách huyết thanh ở tuần thai 11 (trung vị giữa các nhóm lần lượt là 3,09 mUI/ml; 3,59 mUI/ml và 3,2 mUI/ml) ($p < 0,05$). Beta-hCG thay đổi không có ý nghĩa thống kê. ($P > 0,05$)

Bảng 2. Nguy cơ hóa sinh thay đổi theo giá trị PAPP-A

Chỉ số	Bảo quản 96 giờ	Bảo quản 120 giờ
--------	-----------------	------------------

		Nhóm 1-2	Nhóm 1-3	Nhóm 1-4	Nhóm 1-5
Tuần 11	Trung bình % nguy cơ thay đổi	18% ↓	18% ↓	26% ↓	22% ↓
Tuần 12	Trung bình % nguy cơ thay đổi	4% ↓	4% ↓	7% ↓	3% ↓
Quý 1	Trung bình % nguy cơ thay đổi	10% ↓	10% ↓	15% ↓	11% ↓

Nguy cơ hóa sinh thay đổi dưới sự ảnh hưởng của PAPP-A có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở tuần thai 11 và quý 1. Đối với mẫu tách huyết thanh và không tách huyết thanh nguy cơ đều giảm 18% (tuần thai 11) và 10% (quý 1) ở 96 giờ. Sau 120 giờ mẫu tách huyết thanh giảm 26%, mẫu không tách huyết thanh giảm 22% (tuần thai 11), nếu tính cho cả quý 1 thì mẫu tách huyết thanh giảm 15%, mẫu không tách huyết thanh giảm 11% (quý 1).

Bảng 3. Nguy cơ hóa sinh thay đổi theo free beta-hCG

Chi số		Bảo quản 96 giờ		Bảo quản 120 giờ	
		Nhóm 1-2	Nhóm 1-3	Nhóm 1-4	Nhóm 1-5
Tuần 11	Trung bình % nguy cơ thay đổi	30% ↑	22% ↑	21% ↑	28% ↑
Tuần 12	Trung bình % nguy cơ thay đổi	39% ↑	41% ↑	50% ↑	53% ↑
Quý 1	Trung bình % nguy cơ thay đổi	35% ↑	33% ↑	38% ↑	43% ↑

Nguy cơ hóa sinh thay đổi dưới sự ảnh hưởng của free beta-hCG là không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) ở tất cả tuần thai trong quý 1 đối với mẫu tách và không tách huyết thanh.

Giá trị nồng độ của AFP, beta-hCG và uE3 ở từng thời gian bảo quản mẫu khác nhau trong nghiên cứu Triple test

Bảng 4. So sánh nồng độ giữa thời gian lưu mẫu 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ với 24 giờ

Tuần thai	Nhóm	AFP (IU/mL)		Beta - hCG (mIU/mL)		uE3 (ng/mL)	
		Trung vị	Khoảng phân phối	Trung vị	Khoảng phân phối	Trung vị	Khoảng phân phối
Tuần 15	I	32,6	12-56,6	40810	22517-104542	0,31	0,21-0,78
	II	32,8	19,3-80,2	45136	21989-75856	0,44	0,22-0,74
	III	40,1	21,5-130	56025	21527-86570	0,28	0,07-1,01
	IV	36,8	18,1-108	60383	17684-163788	0,29	0,07-0,93
Tuần 16	I	37,2	17,7-350	33028	7229-70616	0,52	0,28-1,22
	II	32,8	17,9-53	32833	14523-87492	0,52	0,17-1,19
	III	39,2	17,9-86,1	35988	17391-111943	0,46	0,09-1,44
	IV	49,1	22,4-87,2	42423	14006-69182	0,62	0,29-1,39
Tuần 17	I	49,5	18,3-94,9	30537	11750-61264	0,79	0,21-1,61
	II	38,9	19,3-61	27193	9905-58207	0,87	0,42-2,77
	III	46,8	25,3-107	28980	9185-70572	0,66	0,24-1,60
	IV	43,6	20,1-142	29120	6386-61109	0,83	0,42-1,97
Tuần 18	I	54,9	12,1-109	25742	9373-77250	1,17	0,07-2,15
	II	45,9	20,5-103	29633	7334-62632	0,92	0,17-1,91
	III	60,2	29,6-134	32020	9960-63152	1,18	0,33-2,44
	IV	54,9	14,4-270	25034	7917-121611	0,99	0,1-2,31
Tuần 19	I	70,6	38,3-120	20042	8113-44857	1,39	0,6-3,5
	II	74,5	24,5-184	27644	7229-71691	1,32	0,46-2,39
	III	73	20,5-174	24965	8949-63276	1,35	0,69-3,91
	IV	60,7	33,8-142	25019	7884-102716	1,29	0,69-2,54
Tuần 20	I	81	30,4-209	21434	5169-53488	1,97	1,21-6,24
	II	73,2	35,1-151	21359	7229-205000	2,08	1,14-5,41
	III	74,4	34,3-144	25922	4929-43826	1,93	0,79-5,05
	IV	72,9	16,1-213	23999	7229-44153	1,94	0,66-4,52

Tuần 21	I	126,5	77,8-152	19004	7229-43784	2,44	2,12-3,27
	II	89,9	57,6-154	23371	5046-80775	2,35	1,23-4,23
	III	75,9	30,6-119	24118	6811-43464	2,22	1,23-3,17
	IV	72,9	67,1-114	19950	16503-22067	2,49	1,53-4,2

Nhóm I: lưu mẫu trong vòng 24 giờ; **Nhóm II:** lưu mẫu trong vòng 48 giờ; **Nhóm III:** lưu mẫu trong vòng 72 giờ; **Nhóm IV:** lưu mẫu trong vòng 96 giờ;

Thời gian lưu mẫu 48 giờ: AFP: giá trị trung vị nồng độ là 38,9IU/mL giảm so với giá trị trung vị nồng độ ở 24 giờ (49,5IU/mL) ở tuần thai 17. Trung vị Beta-hCG là 27644mIU/mL so với 20042 mIU/mL (24 giờ) ở tuần thai 19. UE3, tăng từ 0,31 ng/mL (24 giờ) lên 0,44 ng/mL (48 giờ) ở tuần thai 15, giảm từ 1,17 ng/mL (24 giờ) xuống 0,92ng/mL ở tuần thai 18. Tất cả đều được so sánh với mức ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Thời gian lưu mẫu 72 giờ: AFP: giá trị trung vị nồng độ là 40,1IU/mL ở tuần thai thứ 15 tăng lên so với 32,6 IU/mL (24 giờ) và giảm từ 126,5 IU/mL (24 giờ) xuống 75,9 IU/mL (72 giờ) ở tuần thai 21. Beta-hCG: tăng từ 40810 mIU/mL (24 giờ) lên 56025 mIU/mL (72 giờ) ở tuần thai thứ 15, từ 20042 mIU/mL (24 giờ) lên 24965 mIU/mL (72 giờ) ở tuần thai 19. ($p < 0,05$). UE3, sự khác biệt về nồng độ là không có ý nghĩa thống kê trong tất cả tuần thai ($p > 0,05$).

Thời gian lưu mẫu 96 giờ: AFP: giá trị trung vị nồng độ tăng từ 37,2 IU/mL (24 giờ) lên 49,1 IU/mL (96 giờ) ở tuần thai 16. Beta-hCG, tăng từ 40810mIU/mL (24 giờ) lên 60383 mIU/mL (96 giờ) ở tuần thai 15 ($p < 0,05$). Sự khác biệt về nồng độ uE3 là không có ý nghĩa thống kê trong các tuần thai. ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Đối với nghiên cứu Double test: nghiên cứu trước đây của Lê Thị Mai Dung và Lương Trần Minh Tiến (2020)⁽¹⁾ đã thực hiện bảo quản mẫu ở nhiệt độ (2-8°C) tới 72 giờ nhưng nồng độ free beta-hCG và PAPP-A vẫn chưa thay đổi trên cả mẫu tách huyết thanh và không tách huyết thanh. Điều này không khác biệt với nghiên cứu của Văn Hy Triết (2014)⁽²⁾ có nhiệt độ bảo quản trung bình 3°C với thời gian 72 giờ (không thấy sự khác biệt đối với mẫu tách huyết thanh). Tiếp tục nghiên cứu trên, chúng tôi kéo dài thời gian bảo quản này tới 120 giờ và quan sát sự thay đổi nồng độ free beta-hCG, PAPP-A cũng trên mẫu tách và không tách huyết thanh ở 2-8°C (nhiệt độ trung bình 4,6°C). Chúng tôi nhận thấy, sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê ở hầu hết các tuần thai. Tuy nhiên, bảo quản 120 giờ, sự thay đổi nồng độ PAPP-A ở tuần thai

11 là có ý nghĩa thống kê trên cả mẫu tách và không tách huyết thanh. Phân tích giá trị trung vị nhận thấy giá trị tăng 16% (tách huyết thanh), tăng 3,55% (không tách huyết thanh) (Bảng 1). Với mức CV% của phương pháp đo là 10% thì giá trị phần trăm ở nhóm tách huyết thanh vượt qua sai số của máy nhưng không vượt nhiều, nhóm không tách huyết thanh thì thấp hơn so với khoảng biến thiên này. Do đó sự tăng lên này là có ghi nhận ở nhóm tách huyết thanh nhưng không nhiều chỉ khoảng 6%, cần làm thêm với số lượng mẫu lớn hơn để đánh giá thêm. Nghiên cứu của Cruz và cộng sự (2010)⁽³⁾, với mục đích kiểm tra sự ảnh hưởng của nhiệt độ lên nồng độ free beta-hCG, PAPP-A trong khoảng thời gian từ 1 đến 8 ngày trên 10 mẫu máu không tách huyết thanh và tách huyết thanh. Kết quả sau 8 ngày bảo quản ở 4°C nồng độ free beta-hCG không thay đổi và PAPP-A có sự thay đổi tăng <10%. Trong khi đó mẫu để ở 20°C và 40°C thì PAPP-A chỉ thay đổi 10% khi thời gian bảo quản là 4 ngày, free beta-hCG có giá trị tăng đáng kể. Điều này cho thấy có sự phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi khi có sự tăng nồng độ PAPP-A ở tuần 11 thai kỳ là 16% sau 5 ngày (120 giờ) đồng thời giá trị Free beta-hCG cũng không thay đổi sau 5 ngày khi được bảo quản ở 2-8°C. Bên cạnh đó, còn có các nghiên cứu khác như: nghiên cứu của Geralyn M.Lambert – Messerlian và cộng sự (2006)⁽⁶⁾ cho thấy rằng, nồng độ PAPP-A và free beta-hCG giữ ổn định lên tới 9 ngày ở mẫu tách huyết thanh; trong nghiên cứu của Nicholas J.Cowans và cộng sự (2010)⁽⁸⁾, khi bảo quản ở 3°C, nồng độ PAPP-A ổn định trong 142 ngày, và Free beta-hCG ổn định trong 94 ngày đối với mẫu tách huyết thanh, cả hai nồng độ PAPP-A và Free beta-hCG đều ổn định lên tới 72 giờ đối với mẫu không tách huyết thanh. Ở nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ % thay đổi tăng của PAPP-A khi tách huyết thanh lại cao hơn khi không tách huyết thanh, điều này cần được xem xét lại và thực hiện với số lượng mẫu nhiều hơn trong các nghiên cứu tiếp theo.

Sự thay đổi tỷ lệ nguy cơ hóa sinh. Chúng tôi đánh giá sự thay đổi nguy cơ hóa sinh thông qua sự tác động của từng dấu ấn hóa sinh PAPP-A và free beta-hCG, với sự tăng lên về hiệu số MoM PAPP-A 0,209 (tách huyết thanh) và 0,127 (không tách huyết thanh) sẽ thay đổi giá trị nguy

cơ hóa sinh tương ứng giảm 26% và 22% (tuần thai 11); giảm 15% và 11% (quý 1). Điều này cho thấy, khi bảo quản mẫu với thời gian kéo dài 120 giờ có khả năng gây âm tính giả với một số trường hợp khi nguy cơ nằm gần ngưỡng cắt dù là khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C.

Đối với nghiên cứu Triple test: sự thay đổi nồng độ của các dấu ấn hóa sinh bao gồm: mẫu bảo quản 48 giờ đã thấy sự thay đổi, trong Bảng 6, nồng độ AFP giảm 21% (tuần thai 17), beta-hCG tăng 38% (tuần thai 19), uE3 tăng 42% (tuần thai 15) và giảm 21% (tuần thai 18 ; trong Bảng 7, mẫu bảo quản 72 giờ, nồng độ AFP tăng 23% (tuần thai 15) và giảm 40% (tuần thai 21), beta hCG tăng 37% (tuần thai 15) và 25% (tuần thai 19); trong Bảng 8, mẫu bảo quản 96 giờ, nồng độ AFP tăng 32% (tuần thai 16), beta-hCG tăng 48% (tuần thai 15).

Mặc dù có sự dao động về sự thay đổi giá trị trung vị của các thông số hóa sinh trong các tuần thai ở các điều kiện bảo quản mẫu khác nhau, xu hướng nồng độ Beta-hCG tăng lên khi thời gian bảo quản mẫu kéo dài, uE3, AFP có sự dao động. So với nghiên cứu của Jacques Masse' và cộng sự (2000)⁽⁴⁾, AFP và uE3 ổn định trong huyết thanh với thời gian vận chuyển đến 72 giờ ở môi trường nhiệt độ môi trường xung quanh, trong khi nồng độ t-hCG và free beta-hCG tăng lên (đều 10%). Như vậy xu hướng nồng độ beta-hCG tăng lên theo thời gian bảo quản là tương đồng giữa nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Jacques Masse' và cộng sự. Riêng đối với AFP và uE3 chúng tôi có kết quả dao động tăng và giảm trong một số tuần thai ở các điều kiện thời gian bảo quản mẫu khác nhau không theo qui luật. Các mẫu ở quý 2 của chúng tôi được lấy trên cơ sở nghiên cứu cắt ngang với giá trị nồng độ của các mẫu khác nhau có cùng tuần thai và cùng thời gian bảo quản, không theo dõi được sự thay đổi riêng từng mẫu qua từng thời gian bảo quản, và cũng không biết chính xác các mẫu có được bảo quản đúng theo khuyến cáo hay không.

Nghiên cứu của Louise F Brown và cộng sự (2011)⁽⁷⁾, sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê đối với nồng độ InH_A, uE3 giữa thời điểm phân tích ban đầu (2 giờ) so với 1,3,5, và 7 ngày đối với mẫu tách huyết thanh và không tách huyết thanh. uE3 và InH_A ổn định lên tới 7 ngày trong mẫu tách huyết thanh (22°C và 4°C), mẫu không tách huyết thanh (22°C); trong đó các mẫu được thực hiện ở Canada có nhiệt độ thời tiết khác với Việt Nam, thời gian ngắn hơn (72 giờ) so với 96 giờ và mẫu thực hiện ở cả hai điều kiện là tách

và không tách huyết thanh, còn mẫu của chúng tôi ngẫu nhiên có thể tách hoặc không tách huyết thanh.

Trong nghiên cứu của GERALYN M. Lambert – Messerlian và cộng sự (2006)⁽⁶⁾, beta-hCG và AFP giữ ổn định lên tới 9 ngày ở nhiệt độ bảo quản 4°C, với uE3 thì sự ổn định chỉ trong vòng 6 ngày ở 4°C là dấu ấn duy nhất cho thấy sự thay đổi có ý nghĩa thống kê khi bảo quản sau 6 ngày, nồng độ uE3 sẽ tăng cao hơn khi thời gian bảo quản từ 7 ngày cho đến 9 ngày (5%).

Với nghiên cứu này, chúng tôi dựa trên số liệu thống kê, các mẫu thu thập ngẫu nhiên, vận chuyển mẫu từ các phòng khám về phòng xét nghiệm có nhiệt độ bảo quản và quá trình xử lý mẫu khác nhau: thời gian ly tâm, mẫu có thể tách huyết thanh hay không tách huyết thanh. Cho nên, chúng tôi muốn thực hiện nghiên cứu để xem xét sự thay đổi nồng độ các dấu ấn hóa sinh trong bộ xét nghiệm Triple test trước tình hình bảo quản mẫu của các đơn vị có ảnh hưởng đến giá trị nồng độ các dấu ấn hay không. Sau nghiên cứu cho thấy có sự ảnh hưởng trên cả 3 dấu ấn hóa sinh trong quý 2 thai kỳ.

V. KẾT LUẬN

Double test: mẫu thử được bảo quản ở 2-8°C trong 96 giờ không làm thay đổi giá trị nồng độ free beta-hCG, PAPP-A nhưng làm giảm 10% giá trị nguy cơ hóa sinh. Khi bảo quản mẫu 120 giờ ở 2-8°C nồng độ free beta-hCG không thay đổi, trung vị nồng độ PAPP-A tăng ở tuần thai thứ 11 cao nhất là 16,1% và nguy cơ sinh hóa giảm khoảng 15%.

Triple test: Thời gian lưu mẫu 48 giờ dẫn đến nồng độ AFP giảm và uE3 tăng. Lưu mẫu 72 giờ và 96 giờ làm tăng nồng độ AFP. Nồng độ Beta-hCG tăng dần theo thời gian lưu trữ mẫu 48,72,96 giờ. Thời gian bảo quản mẫu kéo dài, nồng độ beta-hCG có xu hướng tăng lên, AFP và uE3 có sự dao động.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lê Thị Mai Dung, Lương Trần Minh Tiên, Văn Hy Triết (2020).** Nồng độ Free β -hCG và PAPP-A ở các điều kiện bảo quản mẫu ảnh hưởng đến kết quả sàng lọc trước sinh hội chứng Down.Y học Thành phố Hồ Chí Minh. 24: 183
- Văn Hy Triết (2014).** Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ bảo quản huyết thanh trên xét nghiệm định lượng PAPP-A và Free β HCG huyết thanh trong sàng lọc hội chứng Down. Luận văn thạc sĩ Hóa sinh, Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Cruz J. C., G. Minekawa and N.N.Rmaiz, K.H (2010).** Effect of temperature on free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated

- plasma protein-A concentration. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 36(2): 141-146.
4. **J Massé, G Cherian, J Forest (2000).** Transportation of maternal serum specimens for screening for chromosomal aneuploidies: effect of seasonal variations, distance, and freezing on the stability of the biological markers. *Clin Biochem.* 33 (4):273-277.
 5. **K Spencer, P Carpenter, R Anderson and D.A.Krantz (1993).** Stability of intact chorionic gonadotropin (hCG) in serum, liquid whole blood, and dried whole-blood filter-paper spots: impact on screening for Down syndrome by measurement of free beta-hCG subunit. *Clin Chem.* 39(6): 1064-1068.
 6. **Lambert-Messerlian G. M. E, E. E.Malone and G.E.C.F.D. Palomaki, J.A.D'Alton,M.E (2006).** Stability of first- and second-trimester serum markers after storage and shipment. *Prenat Diagn.* 26 (1):17-21
 7. **Louise F Brown C. H. S., Graham Tydeman (2011).** Stability of inhibin A and unconjugated oestriol in the second trimester of pregnancy. *Ann Clin Biochem.* 48:72-74.
 8. **Nicholas J. Cowans A. S., Johanna H., and a.K.S.Minna-Maarit Makel. (2010).** PAPP-A and free β hCG stability in first trimester serum using PerkinElmer AutoDELFIA and DELFIA Xpress systems. *Prenatal Diagnosis.* 30: 127-132.

ĐÁNH GIÁ SHUNT GAN-PHỔI Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN TRƯỚC XẠ TRỊ TRONG CHỌN LỌC BẰNG HẠT VI CẦU PHÓNG XẠ ⁹⁰Y

Nguyễn Duy Anh*, Phạm Văn Thái*,
Trần Hải Bình**, Trịnh Hà Châu**, Lê Văn Kháng**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nhận xét một số yếu tố liên quan tới giá trị shunt gan-phổi khi ghi hình bằng ^{99m}Tc-MAA ở các bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) trước xạ trị trong chọn lọc bằng hạt vi cầu phóng xạ ⁹⁰Y. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiến hành trên 44 bệnh nhân được chẩn đoán UTBMTBG và điều trị tại trung tâm Y học hạt nhân & Ung bướu, bệnh viện Bạch Mai từ năm 2019 đến 2021. Các bệnh nhân được ghi hình bằng máy SPECT với ^{99m}Tc-macroaggregated albumin (MAA) trước khi điều trị phương pháp xạ trị trong chọn lọc (Selective Internal Radiotherapy – SIRT) bằng hạt vi cầu phóng xạ ⁹⁰Y. Giá trị shunt gan-phổi được tính toán và đánh giá mức độ liên quan với một số yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng. Ngoài ra, theo dõi các bệnh nhân theo thời gian để kiểm tra có hay không mối tương quan giữa giá trị shunt gan-phổi với đáp ứng điều trị bằng SIRT. **Kết quả:** Giá trị shunt gan-phổi trung bình 5,3±3,7%, nhỏ nhất 1,2%, lớn nhất 19% (sau đó không điều trị bằng SIRT). Khi ghi hình bằng máy SPECT có 03 bệnh nhân có sự tập trung ^{99m}Tc-MAA ngoài gan (vị trí túi mật và dạ dày). Khảo sát cho thấy rằng có thể có mối liên hệ có ý nghĩa thống kê giữa đặc điểm giới của bệnh nhân, mức độ xơ gan, kích thước khối u, mức độ tăng sinh mạch của khối u với giá trị shunt gan-phổi. Ban đầu thấy rằng giá trị shunt gan-phổi không phải là một yếu tố tiên lượng sự đáp ứng với điều trị SIRT của bệnh nhân UTBMTBG, nhưng có thể thấy rằng giá trị shunt liên quan có ý nghĩa thống kê tới nguy cơ di

căn phổi của khối u gan ác tính. **Kết luận:** Ghi hình với ^{99m}Tc-MAA tính shunt gan-phổi trước điều trị SIRT là cần thiết vì nó giúp giảm thiểu nguy cơ tai biến xảy ra do xạ trị, tăng cường tính an toàn và hiệu quả điều trị. Giá trị shunt gan-phổi hứa hẹn còn mang lại nhiều thông tin hữu ích không chỉ cho riêng SIRT mà kể cả các bệnh nhân điều trị phương án khác.

SUMMARY

ASSESSMENT OF HEPATOPULMONARY SHUNTING IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA PATIENTS BEFORE SELECTIVE INTERNAL RADIATION THERAPY WITH Y-90

Objectives: To evaluate some factors related to the value of hepatopulmonary shunting when imaging with ^{99m}Tc-MAA in patients with hepatocellular carcinoma (HCC) before selective internal radiation therapy with ⁹⁰Y. **Methods:** The study was conducted on 44 patients diagnosed with HCC and treated at the Nuclear Medicine & Oncology Center, Bach Mai Hospital from 2019 to 2021. The patients were recorded by SPECT machine with ^{99m}Tc-macroaggregated albumin (MAA) prior to Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) with ⁹⁰Y radioactive microspheres. Hepatopulmonary shunting values were calculated and assessed in relation to a number of clinical and subclinical factors. In addition, follow-up patients over time to check whether there is a correlation between hepatopulmonary shunting values and response to SIRT treatment. **Results:** The average value of hepatopulmonary shunting was 5.3±3.7%, the smallest 1.2%, the maximum 19% (then no SIRT treatment). When recording with the SPECT machine, there were 03 patients with a concentration of ^{99m}Tc-MAA outside the liver (position of the gallbladder and stomach). The survey showed that there could be a statistically significant relationship between the patient's gender

***TT Y học hạt nhân và Ung bướu, bệnh viện Bạch Mai*
 Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Duy Anh
 Email: duyanh19901@gmail.com
 Ngày nhận bài: 14.9.2021
 Ngày phản biện khoa học: 12.11.2021
 Ngày duyệt bài: 19.11.2021