

3. **French D, Grandin HM, Ofec R.** Retrospective cohort study of 4,591 dental implants: Analysis of risk indicators for bone loss and prevalence of peri-implant mucositis and peri-implantitis. *J Periodontol.* Jul 2019;90(7):691-700.
4. **Bompolaki D, Edmondson SA, Katancik JA.** Interproximal contact loss between implant-supported restorations and adjacent natural teeth: A retrospective cross-sectional study of 83 restorations with an up to 10-year follow-up. *J Prosthet Dent.* Mar 2022;127(3):418-424.
5. **Ren S, Lin Y, Hu X, Wang Y.** Changes in proximal contact tightness between fixed implant prostheses and adjacent teeth: A 1-year prospective study. *J Prosthet Dent.* Apr 2016;115(4):437-40.
6. **Varthis S, Randi A, Tarnow DP.** Prevalence of Interproximal Open Contacts Between Single-Implant Restorations and Adjacent Teeth. *Int J Oral Maxillofac Implants.* Sep-Oct 2016;31(5):1089-92.
7. **Byun SJ, Heo SM, Ahn SG, Chang M.** Analysis of proximal contact loss between implant-supported fixed dental prostheses and adjacent teeth in relation to influential factors and effects. A cross-sectional study. *Clin Oral Implants Res.* Jun 2015;26(6):709-14.
8. **Southard TE, Behrents RG, Tolley EA.** The anterior component of occlusal force. Part 2. Relationship with dental malalignment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* Jan 1990;97(1):41-4.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM BỆNH NHÂN THỰC HIỆN PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DI TRUYỀN TRƯỚC CHUYỂN PHÔI KHÔNG XÂM LẤN

Hồ Giang Nam¹, Trịnh Thế Sơn²,
Đặng Tiến Trường², Hoàng Văn Ái²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu đặc điểm bệnh nhân thực hiện phương pháp phân tích di truyền trước chuyển phôi không xâm lấn. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu quan sát mô tả cắt ngang trên 14 cặp vợ chồng có chỉ định PGT-A và NiPGT-A tình nguyện tham gia nghiên cứu từ tháng 3/2020 tới tháng 11/2020 tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội được nuôi cấy phôi theo quy trình nuôi cấy đơn giọt. **Kết quả:** Tuổi trung bình $35,71 \pm 3,17$, Vô sinh 2 chiếm 85,71%, Chỉ định PGT-A, NiPGT-A chủ yếu do thất bại làm tổ liên tiếp (85,71%) và tuổi mẹ cao (57,14%), AMH trung bình là $2,32\text{ng/mL}$, Số nang thứ cấp trung bình là $12,07 \pm 4,12$, tổng liều FSH dùng trong chu kỳ kích thích buồng trứng có kiểm soát là $2578,57 \pm 483,66$ IU, thời gian dùng FSH trung bình là $10,14 \pm 1,1$ ngày, số phức hợp noãn nang chọc hút được trung bình là $8,5 \pm 4,55$ phức hợp. Số noãn sau tách trung bình là $8,07 \pm 3,87$ noãn. Noãn MII $7,14 \pm 3,63$. Hợp tử 2PN trung bình là $5,21 \pm 2,94$, Tỷ lệ noãn MII trung bình là $89,84 \pm 14,73\%$. Tỷ lệ thụ tinh là $73 \pm 18\%$, tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 là $98,41 \pm 4,03\%$, tỷ lệ phôi nang là $58,08 \pm 27,8\%$. **Kết luận:** Chỉ định PGT-A, NiPGT-A chủ yếu do thất bại làm tổ liên tiếp (85,71%) và tuổi mẹ cao (57,14%), Tỷ lệ thụ tinh là $73 \pm 18\%$, tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 là $98,41 \pm 4,03\%$, tỷ lệ phôi nang là $58,08 \pm 27,8\%$.

Từ khóa: Nuôi cấy phôi đơn giọt, thụ tinh ống nghiệm, niPGT.

¹Bệnh viện Sản Nhi Nghệ An

²Học viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Hồ Giang Nam

Email: giangnamho.sna@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.8.2023

Ngày phản biện khoa học: 2.10.2023

Ngày duyệt bài: 24.10.2023

SUMMARY

TO INVESTIGATE CHARACTERISTICS OF PATIENT USING NON-INVASIVE PRE-IMPLANTATION GENETIC TEST

Objectives: To investigate characteristics of patient using non-invasive pre-implantation genetic test. **Subject and methods:** This descriptive cross-sectional study was conducted on 14 volunteer couples with indication for PGT-A và NiPGT-A from March 2020 to November 2020 at the Military of Institute Clinical Embryology and Histology, embryos were cultured by using single-drop culture process. **Results:** The mean age of 14 patients was 35.71 ± 3.17 , Infertility 2 accounts for 85.71%, The main indications of PGT-A, NiPGT-A are consecutive implantation failure (85.71%) and advanced maternal age (57.14%), the mean level of AMH was 2.32ng/mL , the mean number of Antral follicles count was 12.07 ± 4.12 , Total FSH dose used in controlled ovarian stimulation cycle was 2578.57 ± 483.66 IU, the mean duration of FSH administration was 10.14 ± 1.1 days, the average number of aspirated oocyte corona complexes was 8.5 ± 4.55 complexes. The mean number of oocytes after denudation was 8.07 ± 3.87 . MII oocyte was 7.14 ± 3.63 . The mean 2PN zygote was 5.21 ± 2.94 . The mean MII oocyte rate was $89.84 \pm 14.73\%$. The fertilization rate was $73 \pm 18\%$, the percentage of day-3 cleavage embryo was $98.41 \pm 4.03\%$, the blastulation rate was $58.08 \pm 27.8\%$. **Conclusions:** The main indications for PGT-A, NiPGT-A are consecutive implantation failures (85.71%) and advanced maternal age (57.14%), the percentage of day-3 cleavage embryo was $98.41 \pm 4.03\%$, the blastulation rate was $58.08 \pm 27.8\%$.

Keywords: single-drop embryo culture, individual embryo culture, in vitro fertilization, niPGT, noninvasive pre-implantation genetic testing.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sàng lọc di truyền trước chuyển phôi (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy: PGT-A) xác định lệch bội nhiễm sắc thể ở phôi, giúp cải thiện tỷ lệ thành công của thụ tinh trong ống nghiệm [1]. Tỷ lệ thai phát triển, tỷ lệ sinh con sống tăng lên đáng kể ở nhóm phụ nữ nguy cơ cao như tuổi cao, chuyển phôi thất bại nhiều lần hay sảy thai liên tiếp (Friedenthal 2018; Bellver 2019) [2], [3]. Trong PGT-A, mẫu tế bào lá nuôi (trophectoderm - TE) được sinh thiết ở phôi ngày 5 được sử dụng rộng rãi. Tuy nhiên, độ chính xác của PGT-A liên quan đến thể khảm, tính an toàn của sinh thiết phôi ngày 5 và sự cân nhắc trong chỉ định PGT-A với nhóm đối tượng khác nhau vẫn có những quan điểm trái ngược (Barad, 2017) [4].

Thể khảm, tính an toàn trong quá trình sinh thiết phôi vẫn được coi là yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả và độ chính xác của PGT-A trên mẫu tế bào TE [5]. Tỷ lệ khảm của phôi trong PGT-A từ 30 - 40% (Northrop, 2010), dẫn tới hiện tượng dương tính giả hoặc âm tính giả trong PGT-A [6]. Hơn nữa, quy trình sinh thiết phôi vẫn được coi là kỹ thuật xâm lấn có thể gây ảnh hưởng khả năng làm tổ của phôi. Các yếu tố quan trọng khác liên quan đến sinh thiết TE như giá thành cao và yêu cầu người sinh thiết cần được đào tạo bài bản là những vấn đề làm cho việc áp dụng PGT-A rộng rãi khó khăn hơn.

Để khắc phục những nhược điểm của PGT-A, sàng lọc di truyền trước chuyển phôi không xâm lấn (Noninvasive PGT-A/NiPGT-A) được ưu tiên nghiên cứu. NiPGT-A ban đầu được tiến hành bằng việc phát hiện và khuếch đại thành công ADN tự do (cell-free DNA/cfDNA) có nguồn gốc từ các tế bào phôi trong dịch nang. Tuy nhiên, sự phù hợp của kết quả lệch bội giữa phân tích trên dịch nang và toàn bộ phôi không thống nhất (48 - 97%) (Magli, 2019) [7]. Bên cạnh đó, một số báo cáo về NiPGT-A dựa vào việc phân tích ADN tự do của phôi trong dịch nuôi cấy đã được báo cáo (Rodriguez, 2018) [8]. Kết quả NiPGT-A có độ tương đồng thấp so với PGT-A. Nguyên nhân được cho là do nhiễm tế bào của người mẹ và thể khảm. NiPGT-A được cho là kém ưu thế so với PGT-A (Feichtinger, 2017) [9]. Điều này cho thấy kết quả của NiPGT-A và PGT-A còn nhiều trái ngược. Gần đây, Fang và cộng sự (2019) công bố 27 trẻ sinh sống khỏe mạnh sau khi chuyển 50 phôi lưỡng bội được xác định bằng NiPGT-A [10]. Kết quả phân tích NiPGT-A trên mẫu cfDNA của dịch nang có độ tương đồng cao hơn so với PGT-A trên mẫu TE (Kuznyetsov,

2018). Sử dụng dịch cfDNA phục vụ phân tích rối loạn nhiễm sắc thể của phôi được cho là có thể giải quyết được những lo ngại liên quan đến PGT-A như độ chính xác, tính xâm lấn.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: "*Nghiên cứu đặc điểm bệnh nhân thực hiện phương pháp phân tích di truyền trước chuyển phôi không xâm lấn*".

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Đối tượng nghiên cứu được tuyển chọn theo phương pháp lấy mẫu thuận tiện, gồm 75 phôi từ 14 cặp vợ chồng có chỉ định PGT-A, NiPGT-A tình nguyện tham gia nghiên cứu từ tháng 3/2020 tới tháng 11/2020 tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Những bệnh nhân có chỉ định làm PGT-A, NiPGT-A đủ hồ sơ.

Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Quá trình thực hiện không tuân thủ đúng quy trình kỹ thuật.

2.2. Phương pháp nghiên cứu. Chúng tôi tiến hành theo phương pháp nghiên cứu quan sát mô tả cắt ngang. Quy trình nuôi cấy đơn giọt bao gồm các bước:

Hoàn thiện hồ sơ bệnh án, Kích thích buồng trứng có kiểm soát bằng phác đồ GnRH/Antagonist, Chọc hút noãn.

Tìm phức hợp noãn-nang, ủ noãn, loại bỏ tế bào nang bằng men hyaluronidase.

Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn, theo dõi thụ tinh.

Đánh giá sự phát triển, và hình thái phôi phân cắt tại N3, rửa phôi, chuyển các phôi sang môi trường nuôi cấy đơn giọt (15 μ L), hỗ trợ thoát màng bằng laser.

Đánh giá sự phát triển phôi nang và hình thái phôi (blastocyst) tại N5 hoặc N6.

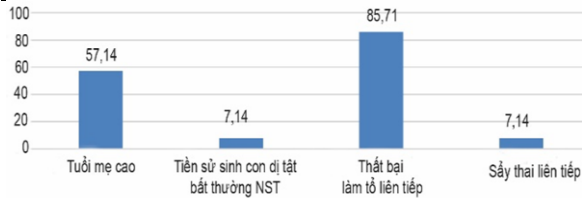
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung về mẫu nghiên cứu

Tuổi trung bình của 14 bệnh nhân nghiên cứu là 35,71 \pm 3,17, trẻ nhất 30 tuổi, lớn nhất là 40 tuổi. Tuổi trung bình của chồng của 14 bệnh nhân nghiên cứu là 42,71 \pm 5,06, trẻ nhất 34 lớn nhất là 52 tuổi. Thời gian vô sinh trung bình là 4,86 \pm 3,37 năm, thời gian vô sinh ngắn nhất là 1 năm, dài nhất là 15 năm (bảng 1). Vô sinh I chiếm 2 trường hợp (14,29%), vô sinh thứ phát chiếm tỷ lệ chủ yếu (85,71%).

Bảng 1. Đặc điểm chung về bệnh nhân nghiên cứu

Chỉ tiêu nghiên cứu	M ± SD	Min	Max
Tuổi mẹ	35,71 ± 3,17	30	40
Tuổi chồng	42,71 ± 5,06	34	52
Thời gian vô sinh	4,86 ± 3,37	1	15



Biểu đồ 1. Chỉ định PGT-A và NiPGT-A

Chỉ định PGT-A, NiPGT-A chủ yếu do thất bại làm tổ liên tiếp và tuổi mẹ cao, ngoài ra còn có các lý do khác là các lý do khác là thất bại làm tổ liên tiếp và sảy thai liên tiếp.

3.2. Các đặc điểm về chu kỳ kích thích buồng trứng có kiểm soát cơ bản của đối tượng nghiên cứu

Nồng độ FSH, LH trung bình trong ngưỡng bình thường của tham chiếu xét nghiệm. Chỉ số AMH trung bình là 2,32ng/mL, thấp nhất là 1,18 cao nhất là 5,09pg/mL. Số nang thứ cấp trung bình là 12,07 ± 4,12. Tổng liều FSH dùng trong chu kỳ kích thích buồng trứng có kiểm soát là 2578,57 ± 483,66IU, thời gian dùng FSH trung bình là 10,14 ± 1,1 ngày.

Bảng 2. Các đặc điểm về chu kỳ kích thích buồng trứng có kiểm soát của đối tượng nghiên cứu

Chỉ tiêu NC	Mean ± SD	Min	Max
FSH ngày 2CKK (mIU/ml)	7,41±2,3	3,45	11,70
LH ngày 2CKK (mIU/ml)	6,49±3,1	3,00	13,30
AMH ngày 2CKK (ng/ml)	2,32±1,04	1,18	5,09
Số nang AFC ngày 2CKK	12,07±4,12	8	23
Tổng liều FSH sử dụng (IU)	2578,57 ±483,66	1800	3600
Số ngày dùng FSH (ngày)	10,14±1,1	8	12
Nội tiết E2 ngày 8 (pg/mL)	2031,85 ±756,83	840,9	2918

Bảng 3. Đặc điểm sử dụng LH, thuốc trigger trong kích thích buồng trứng

Chỉ tiêu NC	Mẫu	Tần suất	Tỷ lệ %
Sử dụng LH trong kích thích COS			
Không	14	3	21,43
Có	14	11	78,57
Thuốc trigger			
Agonist	14	8	57,14
hCG	14	6	42,86

3.3. Kết quả noãn, phôi của đối tượng nghiên cứu. Số phức hợp noãn nang chọc được trung bình là 8.5 ± 4.55 phức hợp, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 17. Số noãn sau tách trung bình là 8.07 ± 3.87 noãn, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 14

noãn. Noãn M2 chiếm đa số với trung bình là 7.14 ± 3.63, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 12. Noãn GV trung bình là 0.14 ± 0.53, nhỏ nhất là 0, lớn nhất là 2. Noãn MI trung bình là 0.5 ± 1.09, nhỏ nhất là 0, lớn nhất là 4. Noãn thoái hóa trung bình là 0.36 ± 0.74, nhỏ nhất là 0, lớn nhất là 2.

Số noãn ICSI trung bình là 7.21 ± 3.72, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 12. Hợp tử 2PN trung bình là 5.21 ± 2.94, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 10. Phôi phân cắt N3 trung bình là 5.29 ± 2.7, nhỏ nhất là 1, lớn nhất là 10. Phôi nang trung bình là 2.93 ± 1.69, nhỏ nhất là 0, lớn nhất là 6.

Tỷ lệ noãn MII trung bình là 89.84 ± 14.73%. Tỷ lệ thụ tinh (số hợp tử 2PN/ số noãn ICSI) là 73 ± 18%, tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 (số phôi phân cắt tại N3/ số hợp tử 2PN) là 98.41 ± 4.03%, tỷ lệ phôi nang (số phôi nang/ số hợp tử 2PN) là 58.08 ± 27.8%.

Bảng 4. Kết quả noãn, phôi của đối tượng nghiên cứu

Chỉ tiêu NC	Kết quả	Min	Max
Số phức hợp noãn nang chọc được	8,5 ± 4,55	1	17
Số noãn sau tách	8,07 ± 3,87	1	14
Noãn GV	0,14 ± 0,53	0	2
Noãn MI	0,5 ± 1,09	0	4
Noãn M2	7,14 ± 3,63	1	12
Noãn thoái hóa	0,36 ± 0,74	0	2
Tỷ lệ noãn GV (%)	1,02 ± 3,82	0	14,28
Tỷ lệ noãn MI (%)	5,37 ± 12,1	0	44,44
Tỷ lệ noãn MII (%)	89,84±14,73	55,55	100
Tỷ lệ noãn thoái hóa (%)	4,56 ± 10,31	0	33,33
Số noãn ICSI	7,21 ± 3,72	1	12
Hợp tử 2PN	5,21 ± 2,94	1	10
Số Phôi phân cắt N3	5,29 ± 2,7	1	10
Số Phôi nang	2,93 ± 1,69	0	6
Tỷ lệ thụ tinh (%)	73 ± 18	42,85	100
Tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 (%)	98,41± 4,03	88,88	100
Tỷ lệ tạo phôi nang (%)	58,08 ± 27,8	0	100

IV. BÀN LUẬN

Mối liên hệ giữa tuổi mẹ và vô sinh và bất thường NST được nhiều nghiên cứu chứng minh. Franasiak và cộng sự (2014) khi nghiên cứu trên 15169 phôi khẳng định vai trò tuổi người mẹ ảnh hưởng đến số lượng noãn, khả năng phát triển của phôi cũng như kết quả của chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm [13]. Tác giả này cho thấy tỷ lệ đột biến NST tăng dần theo tuổi mẹ sau 26 tuổi. Tỷ lệ lệch bội NST thấp nhất ở nhóm tuổi từ 26 tới 37 với 2 - 6%, lệch bội NST là 33% ở tuổi 42 và 53% ở tuổi 44. Tuổi càng cao, tỷ lệ lệch bội nhiễm sắc thể càng tăng, đặc biệt ở phụ nữ,

do đó bất thường NST tăng lên. Năm 2016, Minasi và cộng sự đánh giá tỷ lệ lệch bội ở phôi của các nhóm tuổi mẹ cũng cho kết quả tỷ lệ này tăng lên theo nhóm tuổi mẹ và với nhóm tuổi mẹ trên 41 tuổi thì tỷ lệ này cao gấp 1,73 lần so với phôi của nhóm tuổi mẹ dưới 32 [14]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của 14 bệnh nhân nghiên cứu là $35,71 \pm 3,17$, trẻ nhất 30 tuổi, lớn nhất là 40 tuổi. Tuổi trung bình của Chồng của 14 bệnh nhân nghiên cứu là $42,71 \pm 5,06$, trẻ nhất 34 lớn nhất là 52 tuổi.

Santiago Munné năm 2018 chỉ ra rằng những phụ nữ trên 35 tuổi nên có chỉ định PGT [15]. Theo Khuyến cáo của hội sinh sản người và phôi học châu Âu năm 2020 về thực hành tốt xét nghiệm di truyền tiền làm tổ, chỉ định PGT-A bao gồm: tuổi mẹ cao, thất bại làm tổ liên tiếp, sảy thai liên tiếp, vô sinh nam nặng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ định PGT-A, NiPGT-A chủ yếu do thất bại làm tổ liên tiếp và tuổi mẹ cao, ngoài ra còn có các lý do khác là các lý do khác là thất bại làm tổ liên tiếp và sảy thai liên tiếp.

Mặc dù việc định lượng hormone AMH (anti-Mullerian hormone) có vai trò đánh giá dự trữ buồng trứng tốt hơn, nhưng việc định lượng hormone FSH, LH và E2 ngày thứ 2 và thứ 3 của chu kỳ kinh vẫn có giá trị trong việc đánh giá dự trữ buồng trứng cũng như quyết định liều FSH sử dụng trong kích thích buồng trứng. AMH có liên quan chặt chẽ tới sự chiêu mộ nang noãn, và là marker của dự trữ buồng trứng. Nghiên cứu của Shilenkova 2020 cho rằng AMH, tuổi mẹ cao, FSH có liên quan đến lệch bội NST [16].

Ebner và cộng sự tiến hành nghiên cứu năm 2010 thấy tỷ lệ thụ tinh ở nhóm ICSI là 80,7%, ở nhóm IVF là 69%, trên nhóm nghiên cứu với tuổi trung bình là 31,6%, AMH trung bình là 6,0ng/mL [17]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ thụ tinh trung bình là $73 \pm 18\%$, với độ tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi cao hơn ($35,71 \pm 3,17$ tuổi), AMH thấp hơn nhóm nghiên cứu của Ebner (Nhóm nghiên cứu của chúng tôi là $2,32 \pm 1,04$ ng/mL, ngoài ra nghiên cứu của Ebner chỉ lựa chọn những đối tượng có ít nhất 9 hợp tử. Tỷ lệ noãn trưởng thành trong nghiên cứu của Ebner 2010 là 89,3%, tương đương với nghiên cứu của chúng tôi là 89,84% [17]. Tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 của chúng tôi là $98,41 \pm 4,03\%$, Nghiên cứu của Ebner là 95-96%. Nghiên cứu nuôi phôi đơn giọt của chúng tôi có tỷ lệ phôi nang là $58,08 \pm 27,8\%$, tỷ lệ phôi nang của Ebner khi nuôi đơn giọt là 45,2%, khi nuôi gộp là 55,8%.

V. KẾT LUẬN

Chỉ định PGT-A, NiPGT-A chủ yếu do thất bại làm tổ liên tiếp (85,71%) và tuổi mẹ cao (57,14%), tỷ lệ thụ tinh là $73 \pm 18\%$, tỷ lệ phôi phân cắt ngày 3 là $98,41 \pm 4,03\%$, tỷ lệ phôi nang là $58,08 \pm 27,8\%$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **ESHRE PGT Consortium Steering Committee, Carvalho F., Coonen E. et al.** (2020). ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT. *Human Reproduction Open*, 2020(3), hoaa021.
2. **Friedenthal J., Maxwell S.M., Munné S. et al.** (2018). Next generation sequencing for preimplantation genetic screening improves pregnancy outcomes compared with array comparative genomic hybridization in single thawed euploid embryo transfer cycles. *Fertility and Sterility*, 109(4), 627–632.
3. **Bellver J., Bosch E., Espinós J.J. et al.** (2019). Second-generation preimplantation genetic testing for aneuploidy in assisted reproduction: a SWOT analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 39(6), 905–915.
4. **Barad D.H., Darmon S.K., Kushnir V.A. et al.** (2017). Impact of preimplantation genetic screening on donor oocyte-recipient cycles in the United States. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 217(5), 576.e1-576.e8.
5. **Munné S., Kaplan B., Frattarelli J.L. et al.** (2019). Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. *Fertil Steril*, 112(6), 1071-1079.e7.
6. **Northrop L.E., Treff N.R., Levy B. et al.** (2010). SNP microarray-based 24 chromosome aneuploidy screening demonstrates that cleavage-stage FISH poorly predicts aneuploidy in embryos that develop to morphologically normal blastocysts. *Mol Hum Reprod*, 16(8), 590–600.
7. **Magli M.C., Albanese C., Crippa A. et al.** (2019). Deoxyribonucleic acid detection in blastocoelic fluid: a new predictor of embryo ploidy and viable pregnancy. *Fertility and Sterility*, 111(1), 77–85.
8. **Vera-Rodriguez M., Diez-Juan A., Jimenez-Almazan J. et al.** (2018). Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Hum Reprod*, 33(4), 745–756.
9. **Feichtinger M., Vaccari E., Carli L. et al.** (2017). Non-invasive preimplantation genetic screening using array comparative genomic hybridization on spent culture media: a proof-of-concept pilot study. *Reproductive BioMedicine Online*, 34(6), 583–589.
10. **Fang R., Yang W., Zhao X. et al.** (2019). Chromosome screening using culture medium of embryos fertilised in vitro: a pilot clinical study. *J Transl Med*, 17(1), 73.