TÌM HIỂU GIÁ TRỊ CỦA MỘT SỐ XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC BỆNH THALASSEMIA TẠI HAI HUYỆN MIỀN NÚI A LƯỚI VÀ NAM ĐÔNG TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Nguyễn Duy Thăng[1], Nguyễn Thị Hồng Hạnh[1], Nguyễn Văn Tránh[1], Phan Thị Thùy Hoa[1], Phạm Hữu Trí[1], Trương Xuân Dũng[1], Nguyễn Văn Bông[1], Lê Phan Minh Triết[2], Hà Nữ Thùy Dương[1], Lê Quang Phú[1], Hồ Thị Huệ[1], Hồ Thư[3]

TÓM TẮT

Mục tiêu: *Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của MCV, MCH, sức bền hồng cầu 0,35%, Diclorophenol-Indophenol (DCIP), và điện di huyết sắc tố theo hai phương pháp điện di tập trung đẳng điện (IEF: Isoelectric Focusing) và điện di Acid-Urea-Triton trên gel polyacrylamide (AUT-PAGE: Acid Urea Triton polyacrylamide gel electrophoresis).*

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: *1100 người dân sống tại hai huyện Nam Đông và A Lưới. Mẫu được chọn ngẫu nhiên dựa vào số dân của từng huyện và từng xã. Mẫu máu được phân tích các xét nghiệm sàng lọc như chỉ số hồng cầu, sức bền hồng cầu 0,35%, DCIP, điện di huyết sắc tố phương pháp IEF và AUT-PAGE. Các kết quả được đánh giá bằng xác định thành phần Hb theo phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC: High Performance Liquid Chromatography) và phân tích đột biến.*

Kết quả: *Phối hợp MCV < 80 fl và/hoặc MCH < 27 pg có độ nhạy 78,7%, độ đặc hiệu 67,6%, giá trị dự đoán dương tính 25,5% và giá trị dự đoán âm tính 95,7%. Phối hợp MCH < 27 pg và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 73,4%, giá trị dự đoán dương tính 34,7% và giá trị dự đoán âm tính 100%. Phối hợp SBHC (+) và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 89,0%, giá trị dự đoán dương tính 56,2% và giá trị dự đoán âm tính 100%. Phối hợp điện di IEF và AUT-PAGE (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 100%, giá trị dự đoán dương tính 100% và giá trị dự đoán âm tính 100%.*

Kết luận: *Cần chọn lựa phương pháp sàng lọc tối ưu (tùy theo nguồn lực) như MCV/DCIP, SBHC/DCIP hoặc IEF/AUT-PAGE để mang lại hiệu quả cao.*

Từ khóa: *Thalassemia, sàng lọc, sức bền hồng cầu, MCV, MCH, DCIP, IEF, AUT-PAGE.*

ABSTRACT

STUDY ON THE VALUES OF SCREENING TESTS FOR THALASSEMIA IN NAM DONG AND A LUOI MOUNTAINOUS DISTRICTS, THUA THIEN HUE PROVINCE

Nguyen Duy Thang[1], Nguyen Thi Hong Hanh[1], Nguyen Van Tranh[1], Phan Thi Thuy Hoa[1], Pham Huu Tri[1], Truong Xuan Dung[1], Nguyen Van Bong[1], Le Phan Minh Triet[2], Ha Nu Thuy Duong[1], Le Quang Phu[1], Ho Thi Hue[1], Ho Thu[3]

Objective: *To evaluate the sensitivity, the specificity, positive and negative predictive values of screening*

1. BVTW Huế
2. Trường ĐHYD Huế
3. Sở Y tế Thừa Thiên Huế

- Ngày nhận bài (received): 21/8/2013; Ngày phản biện (revised): 17/12/2013; Ngày đăng bài (Accepted): 18/12/2013
- Người phản biện: PGS.TS Phạm Như Hiệp; Th.S Mai Văn Tuấn
- Người phản hồi (Corresponding author): Phan Thị Thùy Hoa
- Email: drhoavn@gmail.com

tests: MCV, MCH, osmotic fragility 0.35%, Diclorophenol-Indophenol (DCIP), electrophoresis with Isoelectric Focusing method and Acid Urea Triton polyacrylamide gel electrophoresis.

Methods: *1100 Nam Dong and A Luoi participants were randomly chosen based on the population size. Their blood samples were screened for thalassemia using erythrocyte indices, osmotic fragility 0.35% test, DCIP test, electrophoresis with IEF and AUT-PAGE. Results were evaluated with Hb-typing (HPLC method) and analysis of α-globin and β-globin genes.*

Results: *Using both MCV < 80 fl and/or MCH < 27 pg gave a sensitivity of 78.7%, a specificity of 67.6%. The positive predictive value was 25.5% and the negative predictive value was 95.7%. Using both MCH < 27 pg and/or DCIP (+) gave a sensitivity of 100%, a specificity of 73.4%. The positive predictive value was 34.7% and the negative predictive value was 100%. Using OF (+) and/or DCIP (+) gave a sensitivity of 100%, a specificity of 89.0%. The positive predictive value was 56.2% and the negative predictive value was 100%. Using IEF and AUT-PAGE gave a sensitivity of 100%, a specificity of 100%. The positive predictive value was 100% and the negative predictive value was 100%.*

Conclusion: *Depending on the resource of areas, the best screening strategy should be chosen in order to have high-effective in a prevention and control programme for thalassemia.*

Keywords*: Thalassemia, screening, osmotic fragility, MCV, MCH, DCIP, IEF, AUT-PAGE.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là bệnh lý di truyền đơn gen phổ biến nhất trên thế giới và gây thiếu máu tan máu. Nguyên nhân của bệnh thalassemia là do đột biến gen α hoặc/và β globin làm giảm tổng hợp một hoặc nhiều các tiểu đơn vị globin để tạo hemoglobin bình thường.

Việt Nam thuộc vùng có nguy cơ cao mắc bệnh thalassemia và tần suất khác nhau ở các dân tộc. Trong khi tần suất người Kinh là 2-3%, thì các dân tộc miền núi tần suất này cao tới 32, 12, 11% tương ứng ở người Thái, Mường, Tày [2], [3]. Vì vậy, Việt Nam rất cần xây dựng chương trình quốc gia về kiểm soát bệnh thalassemia bao gồm việc phòng tránh các trường hợp bệnh mới, điều trị và quản lý lâu dài bệnh nhân đã có.

Việc tầm soát hiệu quả, xác định được các loại alen đột biến phổ biến trong quần thể sẽ góp phần phát hiện nguồn gen nhanh chóng và chính xác.

Đến nay, nghiên cứu về tầm soát và phân tích gen ở miền Trung còn rất ít và quy mô nhỏ. Một số nghiên cứu ở miền Bắc, đặc biệt ở miền Nam đã xác lập được các kỹ thuật dò tìm và phát hiện đột biến gen đáng tin cậy, bước đầu khảo sát một số đột biến và đề nghị sử dụng chỉ số MCV, MCH làm phương tiện để tầm soát thalassemia như khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới và một số quốc gia trên thế giới. Tuy nhiên, một số câu hỏi vẫn chưa được làm rõ như: Tỉ lệ thalassemia của nhiều vùng miền và dân tộc trong cộng đồng người dân sống tại Việt Nam vẫn chưa được biết? Giá trị sàng lọc của MCV, MCH, sức bền hồng cầu như thế nào? Xét nghiệm Dichlorophenolindophenol (DCIP), điện di tập trung đẳng điện (IEF: Isoelectric Focusing) hoặc điện di Acid-Urea-Triton trên gel polyacrylamide (AUT-PAGE: Acid Urea Triton polyacrylamide gel electrophoresis) mà một số quốc gia đang sử dụng mang lại hiệu quả như thế nào?

Nhằm góp phần tìm hiểu thêm về vấn đề này, chúng tôi tiến hành đề tài: "Tìm hiểu giá trị của một số xét nghiệm sàng lọc bệnh thalassemia tại huyện A Lưới và Nam Đông, tỉnh Thừa Thiên Huế" với mục tiêu xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của MCV, MCH, sức bền hồng cầu 0,35%, DCIP và điện di huyết sắc tố theo hai phương pháp IEF và AUT-PAGE.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Người dân đang cư trú trên địa bàn hai huyện

A Lưới và Nam Đông, tỉnh Thừa Thiên Huế. Loại trừ trẻ em ≤ 2 tuổi và không đồng ý tham gia nghiên cứu sau khi được cung cấp thông tin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

Cỡ mẫu: Cỡ mẫu được tính theo công thức nghiên cứu mô tả ước lượng tỷ lệ:

$$n = Z^2_{\alpha/2} \frac{p(1-p)}{\Delta^2}$$

p = 12%, Δ = 0,02 và α = 0,05, theo công thức trên thì n = 1015.

Chúng tôi thống nhất chọn cỡ mẫu 1100 đối tượng.

Cách chọn mẫu

- Chọn số mẫu của mỗi huyện và mỗi xã: Sử dụng phương pháp chọn mẫu phân tầng căn cứ vào dân số và số xã trên địa bàn huyện A Lưới và Nam Đông.

- Tại mỗi xã sử dụng phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên đơn. Từ đó, chúng tôi có: + Huyện A Lưới: 715 mẫu; + Huyện Nam Đông: 385 mẫu.

Kỹ thuật thực hiện:

+ Chỉ số hồng cầu thực hiện trên máy đếm tế bào máu tự động Sysmex 800i (Nhật Bản).

+ Sức bền hồng cầu: Dung dịch muối đệm 0.35%

+ DCIP: Thuốc thử 2,6 - Dichlorophen-olindophenol (Thái Lan)

+ Điện di IEF trên hệ thống máy điện di ngang của hãng Sigma

+ Điện di AUT-PAGE trên hệ thống máy điện di đứng của hãng Biorad

+ Xác định thành phần Hb trên hệ thống máy sắc ký lỏng cao áp (HPLC) của hãng Biorad (gồm CE-HPLC: Cation Exchange - High Performance Liquid Chromatography và/hoặc RP-HPLC: Reverse Phase - High Performance Liquid Chromatography)

+ Phân tích đột biến trên máy giải trình tự ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Mỹ).

Xử lý số liệu: Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS phiên bản 15.0 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL).

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu

Bảng 1. Phân bố độ tuổi của đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi (năm)	Huyện A Lưới		Huyện Nam Đông		Tổng cộng
	Nam	Nữ	Nam	Nữ	
2-15	85	75	19	21	200 (18,2%
16-30	90	117	67	95	369 (33,5%)
31-45	65	108	50	65	288 (26,2%)
46-60	43	44	19	25	128 (11,6%)
> 60	46	42	17	10	115 (10,5%)
Tổng cộng	329	386	169	216	1100 (100%)
	715		385		

Bảng 2. Phân bố dân tộc của đối tượng nghiên cứu

Dân tộc	Huyện A Lưới	Huyện Nam Đông	Tổng cộng
Kinh	100 (14,0%)	79 (20,5%)	179 (16,3%)
Pako	369 (51,6%)	1 (0,3%)	370 (33,6%)
Tà-ôi	169 (23,6%)	1 (0,3%)	170 (15,5%)
Cơ-tu	74 (10,3%)	304 (78,9%)	378 (34,4%)
Pahy	1 (0,1%)		1 (0,1%)
Mường	1 (0,1%)		1 (0,1%)
Thanh	1 (0,1%)		1 (0,1%)
Tổng cộng	715 (100%)	385 (100%)	1100 (100%)

3.2. Đặc điểm của mẫu bất thường gen

Bảng 3. Số lượng và tỷ lệ mẫu bất thường theo từng huyện

Bất thường theo phân tích HPLC	Bất thường theo phân tích gen	A Lưới	Nam Đông	Tổng cộng
HbE (đồng hợp tử)	β^E/β^E	2	1	3
HbE (dị hợp tử)	β/β^E	77	32	109
Dị hợp tử kép β-thalassemia/ HbE	β^O/β^E	2		2
HbCS	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{CS}\alpha$	3	1	4
	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$		1	1
β-thalassemia (dị hợp tử)	β/β^O hoặc β/β^+	15	2	17
Tổng cộng		99	37	136
Tỷ lệ mẫu bất thường		99/715 (13,8%)	37/385 (9,6%)	136/1100 (12,4%)

Bảng 4. Phân bố về dân tộc theo giới tính của các mẫu bất thường

Dân tộc	Nam	Nữ	Tổng cộng	% theo dân tộc
Kinh	5	5	10	10/179 (5,6%)
Pako	34	40	74	74/370 (20%)
Tà-ôi	5	4	9	9/170 (5,3%)
Cơ-tu	25	17	42	42/378 (11,1%)
Thanh		1	1	1/1
Tổng cộng	69 (50,7%)	67 (49,3%)	136 (100%)	136/1100 (12,4%)

Kết quả cho thấy: Nam giới có tỷ lệ gen bất thường là 50,7% và nữ là 49,3% (không có sự khác biệt giữa giới nam và nữ theo từng dân tộc với p = 0,471 > 0,05).

Dân tộc Pako có tỷ lệ bất thường cao (20%). Tỷ lệ bất thường của dân tộc Cơ-tu là 11,1%. Nghiên cứu của Nguyễn Thanh Liêm và cộng sự (2009) ở nhóm dân tộc Mường huyện Kim Bôi tỉnh Hoà Bình cho thấy bệnh β-thalassemia rất phổ biến với tần suất 10,67% [5]. Theo Dương Bá Trực, trong khi tần suất người Kinh là 2-3%, thì dân tộc miền núi tần suất này cao tới 32, 12, 11% tương ứng ở người Thái, Mường, Tày [1], [2], [3].

Tỷ lệ bất thường của dân tộc Kinh ở 2 huyện miền núi Nam Đông và A Lưới có tỷ lệ 5,6%. Nghiên cứu của Phan Thị Thùy Hoa và cộng sự (2011) trên 130 người Kinh khỏe mạnh từ 12 xã của huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình tham gia hiến máu tình nguyện cho thấy: HbE thể nhẹ chiếm 8,5%, β thalassemia thể nhẹ chiếm 10,8% [4].

Tần suất thalassemia thay đổi theo từng vùng miền và theo dân tộc [1].

Bảng 5. Giá trị trung bình của Hb, MCV và MCH của các mẫu bất thường

Chỉ số hồng cầu	Giá trị trung bình (n = 136)		
	A Lưới	Nam Đông	Tổng cộng
Hb (g/l)	12,74±1,41	12,36±1,35	12,64±1,4
MCV (fl)	76,37±7,29	80,75±7,46	77,57±7,57
MCH (pg)	24,97±2,74	26,25±1,77	25,32±2,79

Kết quả trên cho thấy: Giá trị trung bình của MCV ở huyện Nam Đông > 80 fl. Tỷ lệ HbE ở huyện này chiếm 89,2%. Theo Ma ESK (2001) và Chan LC (2001), nhiều trường hợp HbE thể nhẹ có giá trị MCV và MCH cao hơn ngưỡng 80fl và 27pg (tương ứng). Vì vậy, có thể bỏ sót khi sàng lọc với chỉ số này [9], [10].

3.3. Số lượng mẫu bất thường và không bất thường gen của các xét nghiệm sàng lọc

Bảng 6. Chỉ số hồng cầu

Chỉ số hồng cầu		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
MCV	< 80 fl	82	188	270	1100
	≥ 80 fl	54	776	830	
MCH	< 27 pg	105	305	410	1100
	≥ 27 pg	31	659	690	
MCV ≥ 80 và MCH ≥ 27		29	652	681	1100
MCV < 80 hoặc MCH < 27		27	131	158	
MCV < 80 và MCH < 27		80	181	261	

Kết quả cho thấy: Có 29/136 (21,3%) trường hợp mẫu thalassemia nhưng MCV ≥ 80 fl và MCH ≥ 27 pg. Ngoài ra, có 181/964 (18,8%) mẫu không phải thalassemia có MCV < 80fl và MCH < 27pg. Các trường hợp này có hồng cầu nhỏ, nhược sắc nhưng liên quan đến dinh dưỡng và bệnh lý khác. Điều này đã làm ảnh hưởng đến độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm này về thalassemia.

Bảng 7. Sức bền hồng cầu và DCIP

Sức bền hồng cầu và DCIP		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
SBHC 0.35%	Không tan (+)	129	60	189	1100
	Tan (-)	7	904	911	
DCIP	Bất thường (+)	114	51	165	1100
	Bình thường (-)	22	913	935	
SBHC (+) và/ hoặc DCIP (+)	Bất thường (+)	136	106	242	1100
	Bình thường (-)	0	858	858	

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Bá Trực (1996), *Đặc điểm lâm sàng và huyết học bệnh HbH ở trẻ em Việt Nam, bước đầu tìm hiểu tần suất α Thalassemia ở Hà Nội*, Luận án Phó Tiến sỹ khoa học Y Dược, Đại học Y Hà Nội.
2. Dương Bá Trực (2010), "Tình hình bệnh thalassemia và bệnh hemoglobin ở người Mường tại Hòa Bình", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373, tr. 47-50.
3. Vũ Bích Vân (2010), "Nghiên cứu tỷ lệ mang gen β thalassemia và mối liên hệ với một số chỉ số hồng cầu ngoại vi ở trẻ em dân tộc Tày và Dao huyện Định Hóa, tỉnh Thái Nguyên", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373, tr. 56-61.
4. Phan Thị Thùy Hoa, Nguyễn Duy Thăng, Nguyễn Văn Tránh và cs (2011), "Nhận xét bước đầu về tình hình mang gen bệnh thalassemia ở huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373 (2), tr. 92-98.
5. Nguyễn Thanh Liêm, Dương Bá Trực, Bùi Văn Viên (2009), "Khảo sát bệnh Hb ở nhóm dân tộc Mường huyện Kim Bôi tỉnh Hoà Bình", *Tạp chí Nhi khoa*, 14, tr. 38-45.
6. Goonnapa Fucharoen (2003), "A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia", *Journal of the Medical Association of Thailand.*
7. Kanokwan Sanchaisuriya (2006), "Thalassemia: Overview and laboratory screening", *Blood Cells, Molecules and Diseases,* 37, pp. 8-11.
8. Henri Wajcman (2001), "Abnormal hemoglobins: Laboratory methods", *Henoglobin*, 25(2), pp. 169-181.
9. Ma ESK, Chan AYY et al 2001), "Thalassemia screening on red cell indices in the Chinese", *Hematologica*, 86, pp. 1310-1.
10. Chan LC, Ma SK et al (2001), "Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80fl in areas with a high prevalence of thalassemia?", *Journal of Clinical Pathology*; 54, pp. 317-20.
11. Alter B. P. (1981), "Globin chain electrophoresis for prenatal diagnosis of β Thalassemia", *Hemoglobin*, 5(4), pp. 357-370.
12. Black J. (1988), An Isoelectric Focusing method to detect Hemoglobin variants in newborn blood samples including the β Thalassemias, *Hemoglobin*, 12(5-6), pp. 681-689.

Bảng 5. Giá trị trung bình của Hb, MCV và MCH của các mẫu bất thường

Chỉ số hồng cầu	Giá trị trung bình (n = 136)		
	A Lưới	Nam Đông	Tổng cộng
Hb (g/l)	12,74±1,41	12,36±1,35	12,64±1,4
MCV (fl)	76,37±7,29	80,75±7,46	77,57±7,57
MCH (pg)	24,97±2,74	26,25±1,77	25,32±2,79

Kết quả trên cho thấy: Giá trị trung bình của MCV ở huyện Nam Đông > 80 fl. Tỷ lệ HbE ở huyện này chiếm 89,2%. Theo Ma ESK (2001) và Chan LC (2001), nhiều trường hợp HbE thể nhẹ có giá trị MCV và MCH cao hơn ngưỡng 80fl và 27pg (tương ứng). Vì vậy, có thể bỏ sót khi sàng lọc với chỉ số này [9], [10].

3.3. Số lượng mẫu bất thường và không bất thường gen của các xét nghiệm sàng lọc

Bảng 6. Chỉ số hồng cầu

Chỉ số hồng cầu		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
MCV	< 80 fl	82	188	270	1100
	≥ 80 fl	54	776	830	
MCH	< 27 pg	105	305	410	1100
	≥ 27 pg	31	659	690	
MCV ≥ 80 và MCH ≥ 27		29	652	681	1100
MCV < 80 hoặc MCH < 27		27	131	158	
MCV < 80 và MCH < 27		80	181	261	

Kết quả cho thấy: Có 29/136 (21,3%) trường hợp mẫu thalassemia nhưng MCV ≥ 80 fl và MCH ≥ 27 pg. Ngoài ra, có 181/964 (18,8%) mẫu không phải thalassemia có MCV < 80fl và MCH < 27pg. Các trường hợp này có hồng cầu nhỏ, nhược sắc nhưng liên quan đến dinh dưỡng và bệnh lý khác. Điều này đã làm ảnh hưởng đến độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm này về thalassemia.

Bảng 7. Sức bền hồng cầu và DCIP

Sức bền hồng cầu và DCIP		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
SBHC 0.35%	Không tan (+)	129	60	189	1100
	Tan (-)	7	904	911	
DCIP	Bất thường (+)	114	51	165	1100
	Bình thường (-)	22	913	935	
SBHC (+) và/ hoặc DCIP (+)	Bất thường (+)	136	106	242	1100
	Bình thường (-)	0	858	858	

SBHC 0,35% thường cũng (+) trong những trường hợp hồng cầu nhược sắc không phải thalassemia [1]. Kết quả của chúng tôi có (+) giả là 60 (6,2%) trường hợp.

Kết quả của chúng tôi cũng cho thấy: DCIP (+) trong cả 114 trường hợp HbE. Nghiên cứu của tác giả Fucharoen G. (2003) cho thấy DCIP có độ nhạy 100%, và đất nước Thái Lan đã đưa hai test có kỹ thuật thao tác đơn giản SBHC và DCIP vào sàng lọc, đặc biệt ở những vùng nông thôn [6].

Bảng 8. Điện di huyết sắc tố

Điện di Huyết sắc tố		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
	Bất thường	136	25	161	1100
	Bình thường	0	939	939	
Phương pháp AUT-PAGE	Bất thường	136	16	152	1100
	Bình thường	0	948	948	
Phối hợp đồng thời cả IEF và AUT-PAGE.	Bất thường	136	0	136	1100
	Bình thường 1 hoặc 2 phương pháp	0	964	964	

Trong kỹ thuật điện di IEF, chúng tôi sử dụng 2 loại Ampholyte để tạo gradient pH: Ampholyte 3,5-10 và Ampholyte 6,7-7,7. Như vậy, khi chạy prerun, các phân tử Ampholyte sẽ tự động sắp xếp trong gel để tạo thành một gradient pH tăng dần từ anode đến cathode. Giá trị pI của các loại huyết sắc tố HbA (6,93), HbF (7,0), HbD-Lepore (7,08), HbS (7,1), HbA_2 (7,22), HbC (7,28) nằm trong khoảng pH 6,7-7,7. Sau khi điện di, các phân tử Hb sẽ tập trung trong vùng pH 6,7-7,7, tùy theo giá trị pI của mỗi loại [12].

Kỹ thuật AUT-PAGE để phát hiện bất thường trên chuỗi globin. Kết quả AUT-PAGE bình thường cho thấy các chuỗi globin là các band được phân bố theo thứ tự từ anode tới cathode ($^{A}\gamma$, δ trùng với $^{G}\gamma$, β và α). Trong đó, HbA là thành phần huyết sắc tố chủ yếu nên chuỗi α và β là hai band đậm nhất. HbA_2 và HbF có thành phần thấp nên các chuỗi δ và γ là các band nhạt hơn nhiều. Ở người có hai loại chuỗi globin γ là $^{A}\gamma$ và $^{G}\gamma$. Theo nghiên cứu của Alter (1981), chuỗi δ và $^{G}\gamma$ có cùng tính linh động điện di nên chúng dịch chuyển cùng vị trí trên gel [11].

Hai kỹ thuật này thực hiện đồng thời sẽ giúp cho sàng lọc hiệu quả và định hướng cho việc phân tích gen. Phương pháp này được ứng dụng nhiều ở các nước Châu Âu [12].

Bảng 9. Độ nhạy và độ đặc hiệu của các xét nghiệm sàng lọc

Chỉ số hồng cầu	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự đoán (+)	Giá trị dự đoán (-)
MCV < 80 fl	60,3%	80,5%	30,4%	93,5%
MCH < 27 pg	77,2%	68,4%	25,6%	95,5%
MCV < 80 fl và MCH < 27 pg	58,8%	81,8%	30,7%	93,3%
MCV < 80 fl hoặc MCH < 27 pg	78,7%	67,6%	25,5%	95,7%
SBHC 0,35% (+)	94,9%	93,8%	69,1%	99,2%

DCIP (+) đối với HbE	100%	94,8%	69,1%	100%
Phối hợp SBHC (+) và/hoặc DCIP (+)	100%	89,0%	56,2%	100%
Phối hợp MCH < 27pg và/hoặc DCIP (+)	100%	73,4%	34,7%	100%
Điện di IEF (+)	100%	97,4%	84,5%	100%
Điện di AUT-PAGE (+)	100%	98,3%	89,5%	100%
Điện di IEF (+) và AUT-PAGE (+)	100%	100%	100%	100%

Kết quả cho thấy: Phối hợp hai xét nghiệm sàng lọc SBHC/DCIP hoặc MCH/DCIP hoặc sử dụng phương pháp điện di đã mang lại hiệu quả cao trong sàng lọc. Kết quả của chúng tôi so với các tác giả Sanchaisuriya K [7] và Fucharoen G [6] như sau:

Bảng 10. So sánh các xét nghiệm sàng lọc của BVTW Huế với các tác giả khác

Xét nghiệm sàng lọc	Tác giả	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự đoán (+)	Giá trị dự đoán (-)
MCV < 80 fl và/hoặc MCH < 27 pg	Sanchaisuriya K. (2006)	81,7%	77,0%	71,6%	96,6%
	Chúng tôi	78,7%	67,6%	25,5%	95,7%
Phối hợp MCH < 27pg và/hoặc DCIP (+)	Sanchaisuriya K. (2006)	100%	76,3%	74,9%	100%
	Chúng tôi	100%	73,4%	34,7%	100%
Phối hợp SBHC (+) và/ hoặc DCIP (+)	Sanchaisuriya K. (2006)	100%	87,1%	84,5%	100%
	Fucharoen G. (2003)	100%	69,8%%	77,2%	100%
	Chúng tôi	100%	89,0%	56,2%	100%

Hai xét nghiệm sàng lọc SBHC/DCIP và DCIP/MCH có giá trị cao trong sàng lọc, nên hiện nay đã được ứng dụng nhiều ở các nước Đông Nam Á (nơi có HbE chiếm tỷ lệ cao).

Xét nghiệm điện di có giá trị cao, có định hướng tốt về phương pháp xác định các đột biến, được ứng dụng ở những labo trung tâm hoặc ở đất nước có nguồn lực.

IV. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 1100 đối tượng ở hai huyện miền núi Nam Đông và A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế, chúng tôi có kết luận sau:

1. Phối hợp 2 xét nghiệm sẽ có giá trị sàng lọc cao:

- Phối hợp MCV < 80 fl và/hoặc MCH < 27 pg có độ nhạy 78,7%, độ đặc hiệu 67,6%, giá trị dự đoán dương tính 25,5% và giá trị dự đoán âm tính 95,7%.
- Phối hợp MCH < 27 pg và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 73,4%, giá trị dự đoán dương tính 34,7% và giá trị dự đoán âm tính 100%.
- Phối hợp SBHC (+) và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 89,0%, giá trị dự đoán dương tính 56,2% và giá trị dự đoán âm tính 100%.
- Phối hợp điện di IEF và AUT-PAGE (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 100%, giá trị dự đoán dương tính 100% và giá trị dự đoán âm tính 100%.

2. Cần chọn lựa phương pháp sàng lọc tối ưu (tùy theo nguồn lực) như MCV/DCIP, SBHC/DCIP hoặc IEF/AUT-PAGE để mang lại hiệu quả cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dương Bá Trực (1996), *Đặc điểm lâm sàng và huyết học bệnh HbH ở trẻ em Việt Nam, bước đầu tìm hiểu tần suất α Thalassemia ở Hà Nội*, Luận án Phó Tiến sỹ khoa học Y Dược, Đại học Y Hà Nội.
2. Dương Bá Trực (2010), "Tình hình bệnh thalassemia và bệnh hemoglobin ở người Mường tại Hòa Bình", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373, tr. 47-50.
3. Vũ Bích Vân (2010), "Nghiên cứu tỷ lệ mang gen β thalassemia và mối liên hệ với một số chỉ số hồng cầu ngoại vi ở trẻ em dân tộc Tày và Dao huyện Định Hóa, tỉnh Thái Nguyên", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373, tr. 56-61.
4. Phan Thị Thùy Hoa, Nguyễn Duy Thăng, Nguyễn Văn Tránh và cs (2011), "Nhận xét bước đầu về tình hình mang gen bệnh thalassemia ở huyện Minh Hóa, tỉnh Quảng Bình", *Tạp chí Y học Việt Nam*, 373 (2), tr. 92-98.
5. Nguyễn Thanh Liêm, Dương Bá Trực, Bùi Văn Viên (2009), "Khảo sát bệnh Hb ở nhóm dân tộc Mường huyện Kim Bôi tỉnh Hoà Bình", *Tạp chí Nhi khoa*, 14, tr. 38-45.
6. Goonnapa Fucharoen (2003), "A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia", *Journal of the Medical Association of Thailand.*
7. Kanokwan Sanchaisuriya (2006), "Thalassemia: Overview and laboratory screening", *Blood Cells, Molecules and Diseases,* 37, pp. 8-11.
8. Henri Wajcman (2001), "Abnormal hemoglobins: Laboratory methods", *Henoglobin*, 25(2), pp. 169-181.
9. Ma ESK, Chan AYY et al 2001), "Thalassemia screening on red cell indices in the Chinese", *Hematologica*, 86, pp. 1310-1.
10. Chan LC, Ma SK et al (2001), "Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80fl in areas with a high prevalence of thalassemia?", *Journal of Clinical Pathology*; 54, pp. 317-20.
11. Alter B. P. (1981), "Globin chain electrophoresis for prenatal diagnosis of β Thalassemia", *Hemoglobin*, 5(4), pp. 357-370.
12. Black J. (1988), An Isoelectric Focusing method to detect Hemoglobin variants in newborn blood samples including the β Thalassemias, *Hemoglobin*, 12(5-6), pp. 681-689.