

NGHIÊN CỨU TẦN SUẤT GENE BỆNH THALASSEMIA VÀ GIÁ TRỊ CỦA NHỮNG XÉT NGHIỆM TẦM SOÁT TRONG CỘNG ĐỒNG NGƯỜI DÂN HUYỆN A LƯỚI, TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Phan Thị Thùy Hoa¹, Nguyễn Duy Thăng¹, Lê Phan Minh Triết²,
Hà Nữ Thùy Dương², Nguyễn Thị Hồng Hạnh¹, Võ Thế Hiếu¹,
Lê Quang Phú⁴, Hồ Thị Huệ⁴, Hồ Bách Thắng⁴, Phan Lê Minh Tuấn³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tần suất gene thalassemia ở huyện A Lưới và xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của MCV; MCH; SBHC 0,35%; DCIP và điện di huyết sắc tố theo hai phương pháp IEF và AUT-PAGE.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 715 người dân sống tại huyện A Lưới. Nghiên cứu mô tả cắt ngang. Mẫu được chọn ngẫu nhiên dựa vào số dân của từng huyện và từng xã. Mẫu máu được xét nghiệm tầm soát (chỉ số hồng cầu, sức bền hồng cầu 0,35%, DCIP và điện di Hb theo phương pháp IEF và AUT-PAGE). Kết quả tầm soát dương tính được xác định thành phần Hb (phương pháp HPLC) và phân tích đột biến.

Kết quả:

- Tần suất gene thalassemia: Tần suất gene HbE là 0,0580; β -thalassemia là 0,0084 và HbCs là 0,0042. Nam giới có tỷ lệ gene thalassemia là 51,5% và nữ là 48,5% ($p > 0,05$). Dân tộc Tà-ôi có tỷ lệ bất thường 15,2%, Cơ-tu là 13,5% và Kinh là 6,0%. HbE chiếm 81,8%: gồm 2 trường hợp β^E/β^E , 2 trường hợp β^0/β^E và 77 trường hợp β^E/β . HbCs chiếm 3,0%: gồm 3 trường hợp α^{Cs}/α^{Cs} . β -thalassemia (β^0/β) chiếm 15,2%: gồm 10 trường hợp β^{cd17}/β , 4 trường hợp β^{cd41}/β và 1 trường hợp β^{cd14}/β .

- Phối hợp 2 xét nghiệm sẽ có giá trị sàng lọc cao: MCV < 80 fl và/hoặc MCH < 27 pg có độ nhạy 79,8%, độ đặc hiệu 64,1%. MCH < 27 pg và DCIP (+) có độ nhạy 94,9%, độ đặc hiệu 64,9%. SBHC (+) và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 87,5%. Điện di IEF và AUT-PAGE (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 100%.

Từ khóa: Thalassemia, alen đột biến

ABSTRACT

STUDY ON GENE FREQUENCY AND THE VALUE OF SCREENING TESTS FOR THALASSEMIA IN A LUOI DISTRICT, THUA THIEN HUE PROVINCE

Phan Thi Thuy Hoa¹, Nguyen Duy Thang¹, Le Phan Minh Triet²,
Ha Nu Thuy Duong², Nguyen Thi Hong Hanh¹, Vo The Hieu¹,
Le Quang Phu³, Ho Thi Hue³, Ho Bach Thang³, Phan Le Minh Tuan³

Objective: To determine gene frequency and to evaluate the sensitivity, the specificity of screening tests: MCV, MCH, osmotic fragility 0.35%, Diclorophenol-Indophenol (DCIP), electrophoresis with Isoelectric Focusing method and Acid Urea Triton polyacrylamide gel electrophoresis.

1. TT Huyết học - Truyền máu, BVTW Huế

2. Đại học Y Dược Huế

3. BVĐK Bình Điền, TT Huế

4. TT Y tế huyện A Lưới, TT Huế

- Ngày nhận bài (received): 11/11/2014; Ngày phản biện (revised): 15/11/2014;

- Ngày đăng bài (accepted): 29/11/2014

- Người phản biện: PGS.TS Phạm Như Hiệp; ThS.BSCKII Nguyễn Văn Trách

- Người phản hồi (corresponding author): Phan Thị Thùy Hoa

- Email: drhoavn@gmail.com; ĐT: 0905997687

Methods: 715 A Lưới participants were randomly chosen based on the population size. Cross-sectional study. 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:

- The β^E gene frequency was 0.0580, the α^{CS} was 0.0042 and the β -thalassemia was 0.0084. The prevalence of male was 51.5% and female was 48.5%. The prevalence of Taoi was 15.2%, Cotu was 13.5% and Kinh was 6.0%. Percentage of HbE was 81.8 (including 2 cases of β^E/β^E , 2 cases of β^0/β^E and 77 cases of β^E/β). Percentage of HbCs was 3.0 (including 3 cases of α^{CS}/α^{CS}). Percentage of β -thalassemia was 15.2 (including 10 cases of β^{cd17}/β , 4 cases of β^{cd41}/β và 1 case of β^{cd14}/β).

- Using both MCV < 80 fl and/or MCH < 27 pg gave a sensitivity of 79.8%, a specificity of 64.1%. Using both MCH < 27 pg and/or DCIP (+) gave a sensitivity of 94.9%, a specificity of 64.9%. Using OF (+) and/or DCIP (+) gave a sensitivity of 100%, a specificity of 87.5%. Using IEF and AUT-PAGE gave a sensitivity of 100%, a specificity of 100%.

Key words: thalassemia, allele mutations.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là bệnh lý di truyền đơn gene phổ biến nhất trên thế giới và gây thiếu máu tan máu trên lâm sàng.

Việt Nam thuộc vùng có nguy cơ cao mắc bệnh và tần suất khác nhau ở các dân tộc. Nghiên cứu về tầm soát và phân tích gene 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 gene, và đề nghị sử dụng chỉ số MCV, MCH làm phương tiện để tầm soát thalassemia như khuyến cáo của WHO.

Tuy nhiên, một số câu hỏi vẫn chưa được làm rõ như: Tỷ lệ thalassemia của nhiều vùng miền và dân tộc trong cộng đồng người dân sống tại Việt Nam vẫn chưa được biết? Giá trị tầm soát của MCV, MCH, sức bền hồng cầu (SBHC) 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 với mục tiêu:

- Xác định tần suất gene thalassemia ở huyện A Lưới.

- Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của MCV; MCH; SBHC 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

715 người dân đang cư trú trên địa bàn huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế (gồm 20 xã và thị trấn A Lưới). 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

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang

2.2.2. Cách chọn mẫu nghiên cứu

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

Tại mỗi xã sử dụng phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên hệ thống.

Từ đó, lập danh sách 715 đối tượng nghiên cứu.

2.2.3. Quy trình phân tích mẫu nghiên cứu

- Mẫu được chống đông EDTA

- Thực hiện xét nghiệm sàng lọc: Công thức máu, Sức bền hồng cầu 0,35%, DCIP, điện di huyết sắc tố IEF, AUT-PAGE.

- Xác định thành phần Hb bằng phương pháp HPLC.
- Phân tích đột biến bằng phương pháp giải trình tự gene.

2.2.4. *Xử lý số liệu*: Theo phương pháp thống kê y học (phần mềm SPSS 15.0).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm dịch tễ của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Độ tuổi theo giới tính của đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi (năm)	Nam	Nữ	Nam + Nữ
2 - 15	85 (25,8%)	75 (19,4%)	160 (22,4%)
16 - 30	90 (27,4%)	117 (30,3%)	207 (29,0%)
31 - 45	65 (19,8%)	108 (28,0%)	173 (24,2%)
46 - 60	43 (13,1%)	44 (11,4%)	87 (12,2%)
> 60	46 (14,0%)	42 (10,9%)	88 (12,3%)
Tổng cộng	329 (100%)	386 (100%)	715 (100%)

Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu: $32,8 \pm 20,4$ (từ 2 đến 102 tuổi), trong đó nam giới là $32,7 \pm 22,1$ và nữ giới là $32,9 \pm 18,9$ ($p > 0,05$).

Bảng 3.2. Thành phần dân tộc theo giới tính đối tượng nghiên cứu

Dân tộc	Nam	Nữ	Nam + Nữ
Kinh	39	61	100 (14,0%)
Tà-ôi	252	286	538 (75,3%)
Cơ-tu	38	36	74 (10,4%)
Pa-hy		1	1 (0,1%)
Mường		1	1 (0,1%)
Thanh		1	1 (0,1%)
Tổng cộng	329 (46,0%)	386 (54,0%)	715 (100%)
p	> 0,05		

3.2. Tần suất gene thalassemia và tỷ lệ các kiểu đột biến

Bảng 3.3. Tỷ lệ mẫu có gene thalassemia (theo từng dân tộc)

Dân tộc	Nam	Nữ	Tổng cộng	% theo dân tộc
Kinh	3	3	6 (6,1%)	6/100 (6,0%)
Tà-ôi	40	42	82 (82,8%)	82/538 (15,2%)
Cơ-tu	8	2	10 (10,1%)	10/74 (13,5%)
Thanh		1	1 (1,0%)	1/1
Tổng cộng	51 (51,5%)	48 (48,5%)	99 (100%)	99/715 (13,8%)
p	> 0,05			

Bảng 3.4. Tỷ lệ các thể bệnh và kiểu gene thalassemia

Thể bệnh	Kiểu gene	Số lượng	Tỷ lệ
HbE đồng hợp tử	β^E/β^E	2	2,0
HbE dị hợp tử	β/β^E	77	77,8
Dị hợp tử kép β -thalassemia/HbE	β^{thal}/β^E	2	2,0
β -thalassemia dị hợp tử	β/β^{thal}	15	15,2
HbCs đồng hợp tử	$\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{Cs}\alpha$	3	3,0
Tổng cộng		99	100

Bảng 3.5. Tần suất gene thalassemia của từng thể bệnh

Thể bệnh thalassemia	Tỷ lệ			Tần suất		
	Kinh n = 100	Ít người n = 615	p	Kinh	Ít người	Chung
HbE (n = 81)	1 (1,0%)	80 (13,0%)	< 0,05	0,0050	0,0667	0,0580 (0,0438 - 0,0626)
β -thalassemia (n = 17)	5 (5,0%)	12 (1,9%)	> 0,05	0,0250	0,0098	0,0084 (0,0047 - 0,0125)
HbCs (n = 3)	0	3 (0,5%)			0,0048	0,0042 (0,0014 - 0,0068)

Bảng 3.6. Tỷ lệ các kiểu đột biến α -thalassemia

Thể bệnh	Kiểu gene	Kiểu đột biến	Số lượng
HbCs đồng hợp tử	$\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$	$\alpha^{Cs}\alpha/\alpha^{Cs}\alpha$ Cd 142 TAA>CAA	3
Khác	$-\alpha/-\alpha$, $--/\alpha\alpha$, $--/-\alpha$	-	-
Tổng cộng			3

Bảng 3.7. Tỷ lệ các kiểu đột biến β -thalassemia

Thể bệnh	Kiểu gene	Kiểu đột biến	Số lượng
HbE dị hợp tử	β/β^E	β/β^{cd26} (Cd 26 GAG>AAG)	77 (80,2%)
HbE đồng hợp tử	β^E/β^E	$\beta^{cd26}/\beta^{cd26}$ (Cd 26 GAG>AAG)	2 (2,1%)
Dị hợp tử kép β -thalassemia/HbE	β^0/β^E	$\beta^{cd17}/\beta^{cd26}$ (Cd 17 AAG>TAG)	1 (1,0%)
		$\beta^{ivs1}/\beta^{cd26}$ (IVS1-1(G>T) + HPFH với G γ -158+/-	1 (1,0%)
β -thalassemia	β^0/β	β^{cd17}/β (Cd 17 AAG>TAG)	10 (10,4%)
		β^{cd41}/β (Cd 41/42 - TCTT)	4 (4,2%)
		β^{cd14}/β (Cd 14/15 +G)	1 (1,0%)
Tổng cộng			96 (100%)

3.3. Xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của các xét nghiệm sàng lọc

Bảng 3.8. Chỉ số hồng cầu của mẫu bất thường gene và không bất thường gene

Chỉ số hồng cầu		Mẫu bất thường gene	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
MCV	< 80 fl	66	144	210	715
	≥ 80 fl	33	472	505	
MCH	< 27 pg	78	214	292	715
	≥ 27 pg	21	402	423	
MCV ≥ 80 và MCH ≥ 27		20	395	415	715
MCV < 80 hoặc MCH < 27		14	80	94	
MCV < 80 và MCH < 27		65	141	206	

Bảng 3.9. SBHC và DCIP của mẫu bất thường và không bất thường gene

Sức bền hồng cầu và DCIP		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
SBHC 0,35%	Không tan (+)	94	45	139	715
	Tan (-)	5	571	576	
DCIP	Bất thường (+)	81	36	117	715
	Bình thường (-)	18	580	598	
SBHC (+) và/hoặc DCIP (+)	Bất thường (+)	99	77	176	715
	Bình thường (-)	0	539	539	

Bảng 3.10. Điện di huyết sắc tố của mẫu bất thường và không bất thường gene

Điện di huyết sắc tố		Mẫu bất thường	Mẫu không bất thường	Tổng cộng	
Phương pháp IEF	Bất thường	99	11	110	715
	Bình thường	0	605	605	
Phương pháp AUT-PAGE	Bất thường	99	10	109	715
	Bình thường	0	606	606	
Phối hợp IEF và AUT-PAGE.	Bất thường	99	0	99	715
	Bình thường 1 hoặc 2 phương pháp	0	616	616	

Bảng 3.11. Phân bố về độ nhạy và độ đặc hiệu của các xét nghiệm tầm soát

Chỉ số hồng cầu	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
MCV < 80 fl	66,7%	76,6%
MCH < 27 pg	78,8%	65,3%
MCV < 80 fl và MCH < 27 pg	65,7%	77,1%
MCV < 80 fl hoặc MCH < 27 pg	79,8%	64,1%
SBHC 0,35% (+)	94,9%	92,7%
DCIP (+) đối với HbE	100%	94,2%
Phối hợp SBHC (+) và/hoặc DCIP (+)	100%	87,5%
Phối hợp MCH < 27pg và/hoặc DCIP (+)	94,9%	64,9%
Điện di IEF (+)	100%	98,2%
Điện di AUT-PAGE (+)	100%	98,4%
Điện di IEF (+) và AUT-PAGE (+)	100%	100%

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm dịch tễ đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1 cho thấy độ tuổi chiếm tỷ lệ cao là 16-30 tuổi (29,0%) và 31-45 tuổi (24,2%). Độ tuổi trung bình là $32,8 \pm 20,4$. Tuổi trung bình của nam và nữ khác nhau không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Kết quả này phù hợp với đặc điểm dân số Việt Nam (2004) [3]. Mặc dù dân tộc Kinh chiếm 85,37% dân số Việt Nam (thống kê tháng 4/2009), nhưng đối với huyện miền núi này, dân tộc ít người chiếm tỷ lệ (86,0%) cao hơn so với người Kinh (14%) (bảng 3.2) [3].

4.2. Tần suất gene thalassemia

Nam giới có tỷ lệ gene thalassemia là 51,5% và nữ là 48,5% (bảng 3.3) ($p > 0,05$). Đây là bệnh di truyền lặn nhiễm sắc thể thường, nam và nữ đều có nguy cơ mắc bệnh như nhau. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Công Khanh, Bùi Văn Viên đều cho thấy tỷ

lệ mắc bệnh tương đương cả 2 giới [1], [4].

Dân tộc Tà-ôi có tỷ lệ bất thường 15,2%; Cơ-tu là 13,5%. Nghiên cứu của Nguyễn Thanh Liêm và cs (2009) ở nhóm dân tộc Mường huyện Kim Bôi, Hoà Bình cho thấy bệnh β -thalassemia rất phổ biến với tần suất 10,67%. Theo Dương Bá Trục, trong khi tần suất người Kinh là 2-3%, dân tộc miền núi tần suất này cao tới 32, 12, 11% tương ứng ở người Thái, Mường, Tày [2].

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

Bảng 3.4 và 3.5 cho thấy tần suất gene HbE là 0,0580. Tỷ lệ HbE của dân tộc Kinh là 1,0% và dân tộc ít người là 13,0%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tỷ lệ HbCs dân tộc ít người là 0,5%, chưa thấy trường hợp HbCs nào thuộc người Kinh. Tần số gene HbCs là 0,0042.

Bảng 4.1. So sánh tần suất gene β^E và gene α^{Cs} ở miền Nam và miền Trung, Việt Nam và ở một số quần thể Đông Nam Á

Quần thể	Tần suất β^E	Tần suất α^{Cs}
Miền Nam (O’Riordan S và cộng sự) [12]	Kinh	0,017
	Tày	0,014
	Dao	0
	Nùng	0,010
	S’Tieng	0,356
	M’Nong	0,240
	Raclay	0,144
	Ede	0,314

Miền Trung (Nguyen và cs) [11]	86,8% Kinh, 13,2% Cơ-tu và Tà-ôi	0,017	0,0207
Một số quần thể Đông Nam Á [9]	Karachi	0,507	0
	Ahom	0,342	0
	Miền Bắc Thái Lan	0,048	0,0331
	Tak	0,102	0,0156
	Khon Kaen, Thái Lan	0,263	0,0558
	Ubol Rachathani	0,287	0,0556
	Campuchia	0,229	0,0088
Nghiên cứu của chúng tôi	Kinh	0,0050	0
	Dân tộc ít người	0,0667	0,0048

Tần suất gene β^E ở nhóm dân tộc ít người trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn dân tộc Dao; Tày; Nùng, nhưng thấp hơn các dân tộc S'Tieng, M'Nong, Raclay, Ê-đê ở miền Nam.

Tần suất gene β^E trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn quần thể Đông Nam Á. Chỉ có tần suất gene β^E ở nhóm dân tộc ít người trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn miền Bắc Thái Lan (0,0667 so với 0,0480).

Ở bảng 4.1 cũng cho thấy tần suất gene α^{Cs} ở dân tộc ít người trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn ở người Nùng nhưng thấp hơn người Tày và S'Tieng. Ngoại trừ Karachi và Ahom, tần suất gene α^{Cs} trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn ở Đông Nam Á. Sự khác biệt

này có thể liên quan đến cỡ mẫu, cách chọn mẫu.

Về β -thalassemia, bảng 3.5 cho thấy tỷ lệ β -thalassemia của dân tộc Kinh là 5,0% và dân tộc ít người là 1,9%. Tần suất gene β -thalassemia (β^{thal}) là 0,0084, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nghiên cứu của Nguyen H.V cho thấy tần suất gene β -thalassemia là 0,0061 [11].

Về số lượng và tỷ lệ các kiểu đột biến được phát hiện, đối với α -thalassemia chúng tôi chỉ mới ghi nhận được alen đột biến α^{Cs} (bảng 3.6), chưa tìm thấy các alen đột biến khác. Đối với β -thalassemia (bảng 3.7), alen đột biến codon 26 GAG>AAG (HbE) chiếm tỷ lệ cao, phổ biến thứ hai là đột biến codon 17 AAG>TAG.

Bảng 4.2. So sánh các kiểu đột biến β -thalassemia với Trung Quốc và Thái Lan

Các kiểu đột biến	Nghiên cứu của chúng tôi	Miền Bắc Việt Nam [7]	Miền Nam Việt Nam [10], [14]	Thái Lan [10], [14]	Miền Nam Trung Quốc [10], [15]
Codon 26 (GAG→AAG)	+	+	+	+	+
Codon 17 (AAG→TAG)	+	+	+	+	+
Codons 41/42 (-TTCT)	+	+	+	+	+
IVS-I-1 (G→T)	+	-	+	+	-
Codon 14/15(+G)	+	-	-	+	-
Codon 95 (+A)	-	+	+	-	-
Codons 71/72(+A)	-	+	+	+	+
IVS-II-654 (C→T)	-	-	+	+	+
-28 (A→G)	-	-	+	+	+

Có các đột biến phổ biến được tìm thấy trong cả 3 miền của Việt Nam, Thái Lan và Trung Quốc, đó là codon 26 (GAG→AAG), codon 17 (AAG→TAG) và codon 41/42(-TTCT), đặc biệt là codon 26 (GAG→AAG).

Hai loại đột biến ở miền Bắc Việt Nam (codon 95 (+A) và codon 71/72 (+A) và 4 loại đột biến ở miền Nam Việt Nam (IVS-II-654 (C→T), -28 (A→G) và 2 đột biến như ở miền Bắc Việt Nam) chưa gặp trong nghiên cứu của chúng tôi. Đột biến IVS-I-1 (G→T) được tìm thấy ở miền Trung và miền Nam Việt Nam nhưng lại không tìm thấy ở miền Bắc Việt Nam.

Đặc biệt, chúng tôi tìm thấy một đột biến chưa được mô tả ở Việt Nam, đó là đột biến codon 14/15 (+G) - đột biến chuyển khung do thêm G vào giữa codon 14/15 của gene β globin, biểu hiện kiểu hình β^0 -thalassemia.

Ngoài ra, chúng tôi cũng gặp một trường hợp không phổ biến khác ở Việt Nam, đó là genotype β^0/β^E ($\beta^{IVS1}/\beta^{cd26}$) có đột biến HPFH với $G\gamma$ -158/+.

4.3. Độ nhạy và độ đặc hiệu của các xét nghiệm tầm soát

Bảng 3.8 cho thấy có 20/99 (20,2%) trường hợp mẫu thalassemia nhưng $MCV \geq 80$ fl và $MCH \geq 27$ pg. Ngoài ra, có 141/616 (22,9%) mẫu không phải thalassemia có $MCV < 80$ fl và $MCH < 27$ pg, 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 [2].

Bảng 3.9 cho thấy SBHC 0,35% thường cũng (+) trong những trường hợp hồng cầu nhược sắc không phải thalassemia. Kết quả của chúng tôi có (+) giả là 45 (6,2%) trường hợp. DCIP (+) trong cả 81 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 [8].

Trong kỹ thuật điện di IEF (bảng 3.10), 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), HbA₂ (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 [6].

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. HbA₂ 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 [5].

Hai kỹ thuật này thực hiện đồng thời sẽ giúp cho tầm soát hiệu quả và định hướng cho việc phân tích gene. Phương pháp này được ứng dụng nhiều ở các nước Châu Âu.

Phối hợp hai xét nghiệm sàng lọc SBHC/DCIP hoặc MCH/DCIP hoặc sử dụng phương pháp điện di (bảng 3.11) đã mang lại hiệu quả cao trong sàng lọc. Kết quả của chúng tôi so với các tác giả Sanchaisuriya K. [13] và Fucharoen G. [8] như sau:

Xét nghiệm tầm soát	Tác giả	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
MCV < 80 fl và/hoặc MCH < 27 pg	Sanchaisuriya K. (2006)	81,7%	77,0%
	Chúng tôi	79,8%	64,1%
Phối hợp MCH < 27pg và/hoặc DCIP (+)	Sanchaisuriya K. (2006)	100%	76,3%
	Chúng tôi	94,9%	64,9%
Phối hợp SBHC (+) và/hoặc DCIP (+)	Sanchaisuriya K. (2006)	100%	87,1%
	Fucharoen G. (2003)	100%	69,8%%
	Chúng tôi	100%	87,5%

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.

V. KẾT LUẬN

- Tần suất gene thalassemia

+ Tần suất gene HbE là 0,0580; β -thalassemia là 0,0084 và HbCs là 0,0042.

+ Nam giới có tỷ lệ gene thalassemia là 51,5% và nữ là 48,5% ($p > 0,05$).

+ Dân tộc Tà-ôi có tỷ lệ bất thường 15,2%, Cơ-tu là 13,5% và Kinh là 6,0%.

+ HbE chiếm 81,8%: gồm 2 trường hợp β^E/β^E , 2

trường hợp β^0/β^E và 77 trường hợp β^E/β .

+ HbCs chiếm 3,0%: gồm 3 trường hợp α^{Cs}/α^{Cs} .

+ β -thalassemia (β^0/β) chiếm 15,2%: gồm 10 trường hợp β^{cd17}/β , 4 trường hợp β^{cd41}/β và 1 trường hợp β^{cd14}/β .

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

+ $MCV < 80$ fl và/hoặc $MCH < 27$ pg có độ nhạy 79,8%, độ đặc hiệu 64,1%.

+ $MCH < 27$ pg và DCIP (+) có độ nhạy 94,9%, độ đặc hiệu 64,9%.

+ SBHC (+) và DCIP (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 87,5%.

+ Điện di IEF và AUT-PAGE (+) có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 100%.

Nghiên cứu này được sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học Công nghệ (mã số TTH 2012 - KC.08), Ủy ban Nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Công Khanh (1993), "Tần số bệnh hemoglobin ở Việt Nam", *Tạp chí Y học Việt Nam, Chuyên đề bệnh thalassemia*, tr. 11- 16.
2. Nguyễn Thanh Liêm, Dương Bá Trực (2009), "Khảo sát bệnh Hb ở nhóm dân tộc Mường, Kim Bôi tỉnh Hoà Bình", *Tạp chí Nhi khoa*, (14), tr. 38- 45.
3. Quỹ dân số Liên hợp quốc tại Việt Nam (UNFPA) (2011), *Các dân tộc Việt Nam: Phân tích các chỉ tiêu chính từ tổng điều tra dân số và nhà ở Việt Nam năm 2009*, Hà Nội.
4. Bùi Văn Viên (1999), *Một số đặc điểm lâm sàng và huyết học bệnh HbE và tần suất người mang gene HbE dân tộc Mường Hòa Bình*, Luận án Tiến sĩ Y học, Đại học Y Hà Nội.
5. Alter B.P. (1981), "Globin chain electrophoresis for prenatal diagnosis of β Thalassemia", *Hemoglobin*, 5(4), pp. 357- 370.
6. 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.
7. Filon D., Oppenheim A. & Truc D. B. (2000), "Molecular analysis of beta thalassemia in Vietnam", *Hemoglobin*, 24 (2), pp. 99- 104.
8. Fucharoen G. (2003), "A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia", *Journal of the Medical Association of Thailand*.
9. Laig M., Pape M. et al. (1990), "The distribution of the Hb Constant Spring gene in Southeast Asian populations". *Hum. Genet.*, 84, pp. 188- 190.
10. Le T.H., Pissard S., Pham H.V., et al. (2001), "Molecular analysis of β -thalassemia in South Vietnam", *Hemoglobin*, 25(3), pp. 305- 309.
11. Nguyen H.V. et al. (2013), "Thalassemia and hemoglobinopathies in Thua Thien Hue province, central Vietnam", *Hemoglobin*, 37(4), pp. 333 - 342.
12. O'Riordan S., Tran Tinh Hien et al (2010), "Large scale screening for haemoglobin disorders in southern Vietnam: implications for avoidance and management", *British Journal*

- of Haematology*, 150 (3), pp. 359- 364.
13. Sanchaisuriya K. (2006), "Thalassemia: Overview and laboratory screening", *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 37, pp. 8- 11.
 14. Saovaros Svasti M.L., et al. (2002), "Molecular analysis of β -thalassemia in South Vietnam", *American Journal of Hematology*, 71, pp. 85- 88.
 15. Stamatoyannopoulos G. (2005), "Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation", *Experimental Hematology*, 33 (3), pp. 259- 271.