

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HUYẾT SẮC TỐ Ở CỘNG ĐỒNG NGƯỜI CÓ HỒNG CẦU NHỎ SINH SỐNG TẠI TỈNH SƠN LA

Lê Xuân Hải¹, Trần Thị Ngọc Anh¹, Vũ Đức Lương¹,
Nguyễn Ngọc Thủy¹, Hoàng Chí Cường¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu đặc điểm thành phần huyết sắc tố ở cộng đồng người có hồng cầu nhỏ sinh sống tại tỉnh Sơn La. Bước đầu nghiên cứu giá trị của điện di huyết sắc tố trong chẩn đoán thể bệnh thalassemia.

Đối tượng nghiên cứu: 639 mẫu hồng cầu nhỏ thu thập được tại tỉnh Sơn La trong đề tài “Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ gen bệnh Thalassemia tại Việt Nam năm 2017”.

Kết quả: Qua phân tích 639 người có hồng cầu nhỏ tại tỉnh Sơn La phát hiện được 63,5% số mẫu có bất thường huyết sắc tố. Trong đó 41,5% có HbE, 12,1% là beta thalassemia, nhóm có HbA2 giảm chiếm 9,7%, 1,1% có kiểu hình alpha thalassemia và huyết sắc tố hiếm gặp chiếm 1%. 96% kiểu hình Beta thalassemia trên điện di huyết sắc tố xác định có đột biến trên gen beta globin. 100% kiểu hình HbE, alpha thalassemia (HbH) trên điện di huyết sắc tố đều xác định được đột biến gen phù hợp. **Kết luận:** Phương pháp phân tích thành huyết sắc tố là phương pháp sàng lọc hiệu quả các kiểu hình beta thalassemia, HbE và HbH. Với kiểu hình HbA2 giảm và kiểu hình huyết sắc tố bình thường nên làm xét nghiệm phát hiện đột biến gen alpha thalassemia.

SUMMARY

STUDY ON THE COMPONENT OF HEMOGLOBIN IN COMMUNITY OF PEOPLE WITH SMALL RED BLOOD CELLS LIVING IN SON LA PROVINCE

Objective: Study on the characteristics of hemoglobin composition in the community of small red blood cells living in Son La province.

Object of study: 639 small red blood cells sample which was collected in Son La province in the project "Research on the epidemiological characteristics of the thalassemia gene in Vietnam in 2017"

Results: Through the analysis of 639 people with small red blood cells in Son La province, 63.5% of the samples had an abnormal hemoglobin. Of which 41.5% had HbE, 12.1% was beta thalassemia, the group had decreased HbA2 accounting for 9.7%, 1.1% had alpha thalassemia and rare hemoglobin had 1%. Hemoglobin analysis method is an effective method of screening beta thalassemia, HbE and HbH. The groups with decreased HbA2 phenotype and normal hemoglobin phenotype should run the test to check if there are mutation in alpha thalassemia genes.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia (còn gọi là bệnh tan máu bẩm sinh) là một nhóm bệnh huyết sắc tố gây thiếu máu tan máu di truyền, mỗi thể bệnh là do bất thường tổng hợp một loại chuỗi globin. Có hai nhóm bệnh chính là Alpha (α) thalassemia và Beta (β) thalassemia.

¹*Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương*
Chịu trách nhiệm chính: Trần Thị Ngọc Anh
Email: ngocanh611@gmail.com
Ngày nhận bài: 01/4/2021
Ngày phản biện khoa học: 01/4/2021
Ngày duyệt bài: 17/4/2021

Trên toàn cầu, có 80 đến 90 triệu người mang gen bệnh thalassemia (chiếm gần 1,5% dân số toàn thế giới), trong đó riêng khu vực Đông Nam Á chiếm khoảng 50% (tỷ lệ người mang gen thalassemia tại Đông Nam Á khoảng 7,6%).

Theo ước tính, nước ta có khoảng 10% dân số mang gen bệnh (trên 10 triệu người), người bị bệnh và mang gen bệnh có ở tất cả các tỉnh/thành phố, kể cả đô thị, ở tất cả các dân tộc. Ước tính mỗi năm có khoảng 2.000 trẻ sinh ra bị bệnh này. Đây là nguồn tiếp tục làm tăng số bệnh nhân mới, ảnh hưởng không nhỏ đến chất lượng dân số, gánh nặng về y tế và kinh tế đối với đất nước.

Việc chẩn đoán bệnh thalassemia trải qua nhiều bước từ sàng lọc ban đầu bằng các chỉ số MCV, MCH và sức bèn hồng cầu, DCIP đến xét nghiệm sâu hơn là điện di huyết sắc tố và xét nghiệm mức độ phân tử. Hiện nay, các kỹ thuật xét nghiệm ở mức độ phân tử có thể xác định chính xác tổn thương gen trong Thalassemia, song mới chỉ thực hiện được ở một số labo tuyến trung ương do có độ phức tạp và chi phí rất cao. Trong khi đó, xét nghiệm điện di huyết sắc tố dễ thực hiện và đạt hiệu quả cao trong việc sàng lọc thalassemia nên được sử dụng khá phổ biến.

Nghiên cứu về huyết sắc tố ở Việt nam được quan tâm từ khá sớm. Tuy nhiên các nghiên cứu có số liệu nhỏ lẻ, chưa toàn diện. Chính vì vậy, Viện Huyết học và Truyền máu TW đã tiến hành đề tài “Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ gen bệnh Thalassemia tại Việt Nam năm 2017” nhằm thống kê số liệu đầy đủ nhất về tỷ lệ người mang gen bệnh Thalassemia trong quần thể các dân tộc Việt Nam. Trích từ đề tài này, chúng tôi thực hiện

ngẫu nhiên đề tài “Nghiên cứu thành phần huyết sắc tố ở cộng đồng người có hồng cầu nhỏ sinh sống tại tỉnh Sơn La”.

Mục tiêu nghiên cứu:

- Nghiên cứu đặc điểm thành phần huyết sắc tố ở cộng đồng người có hồng cầu nhỏ sinh sống tại tỉnh Sơn La

- Bước đầu nghiên cứu giá trị của điện di huyết sắc tố trong chẩn đoán thể bệnh thalassemia.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- **Tiêu chuẩn chọn mẫu:** Tất cả mẫu thu thập được tại tỉnh Sơn La trong đề tài “Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ gen bệnh Thalassemia tại Việt Nam năm 2017” có hồng cầu nhỏ.

- **Cỡ mẫu nghiên cứu:** 639 mẫu hồng cầu nhỏ (MCV<85fl và hoặc MCH<28pg)

- **Thời gian nghiên cứu:** từ tháng 1/2017 đến tháng 12/2017 (12 tháng).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Kỹ thuật thực hiện

- Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu: Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông EDTA, xét nghiệm bằng nguyên lý laser.

- Xét nghiệm sắt và ferritin: Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống không chống đông. Xét nghiệm sắt bằng kỹ thuật so màu đo quang, ferritin bằng kỹ thuật miễn dịch hóa phát quang.

- Xét nghiệm thành phần huyết sắc tố: Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông EDTA, xét nghiệm bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

- Xác định đột biến gen: Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông EDTA. Xét nghiệm bằng kỹ thuật Multiplex PCR, Gap-PCR...

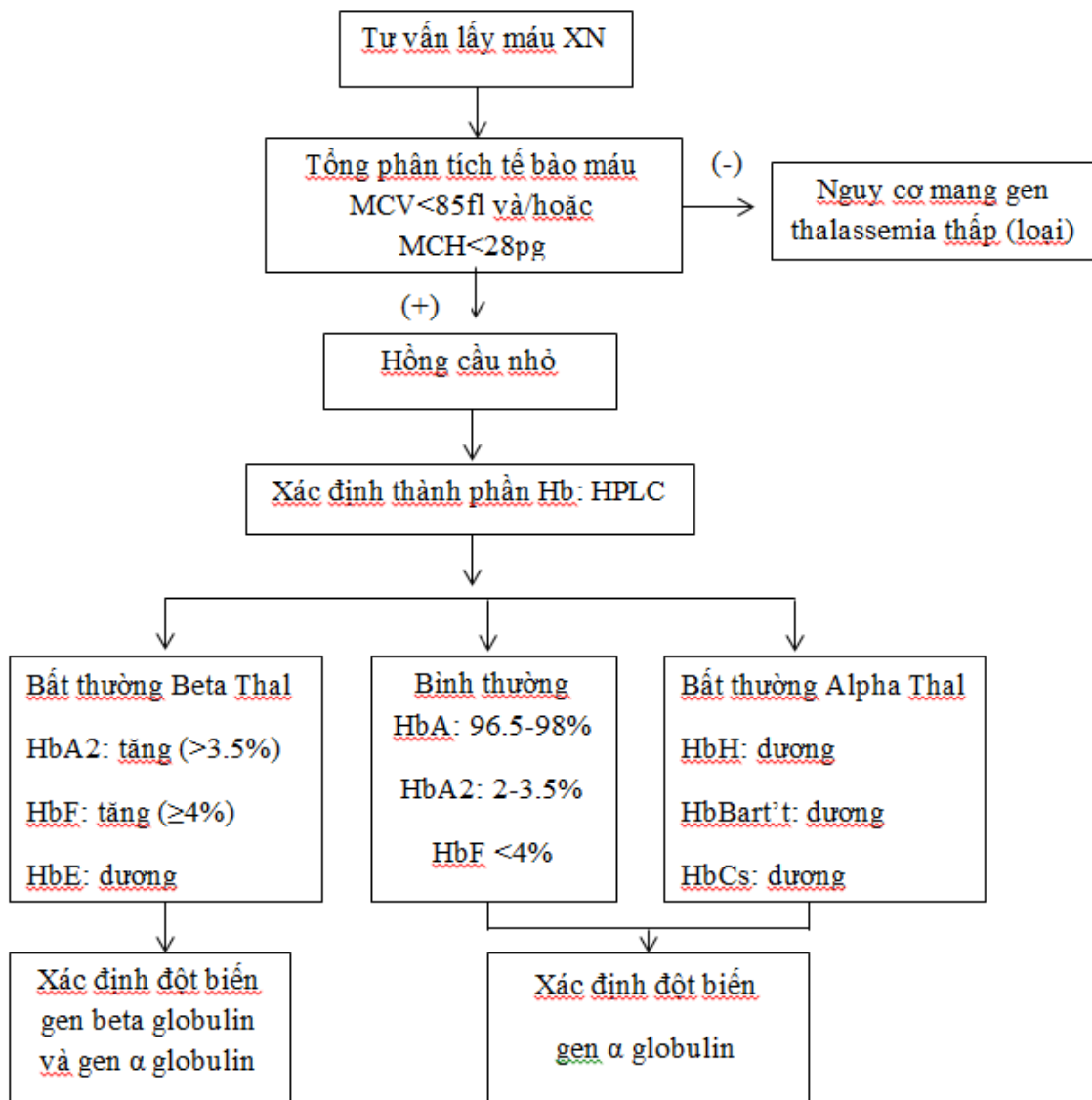
2.2.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán

- ❖ Chỉ số xét nghiệm tế bào máu ngoại vi [2]:
 - Thể tích trung bình hồng cầu (MCV): hồng cầu nhỏ khi $MCV < 85$ fl
 - Huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH): hồng cầu nhược sắc khi $MCH < 28$ pg.

❖ Chỉ số xét nghiệm thành phần huyết sắc tố [2]:

Các thành phần huyết sắc tố được xác định dựa vào thời gian trễ liên quan (RRT) và cảnh báo của máy Ultra² in ra so sánh với thư viện hình ảnh chuẩn để nhận định.

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



- Giá trị bình thường của từng loại huyết sắc tố [4]:

Huyết sắc tố	HbA1	HbA2	HbF	HbE	HbH	HbBart's	Khác
Giá trị bình thường	96,5%-98,5%	2%-3,5%	<4%	0%	0%	0%	0%

Tỷ lệ % của HbA1, HbA2, HbF, HbE, HbH, Hb Bart, Hb Cs, và các Hb bất thường khác (nếu có).

- Beta thalassemia [8]:

• HbA1+ HbA2 tăng: HbA1+ HbA2 >3,5%

• HbA1+ HbA2+ HbF tăng: HbA1+ HbA2+ HbF ≥4%

• HbA1+ HbA2 tăng + HbF tăng: HbA1+ HbA2 >3,5% và HbF ≥4%

- HbA1+HbE: HbA1+HbE >0%

- Alpha thalassemia [8]:

• HbA1+HbH: HbA1+HbH >0%

- HbA1+HbA2 giảm: HbA1+HbA2 <2%
- Huyết sắc tố bất thường khác: khi có bất cứ huyết sắc tố bất thường nào khác ngoài các loại trên như: Hb Hekinan, Hb Tak...

❖ Chỉ số xét nghiệm Sinh học phân tử:

Sàng lọc đầy đủ các đột biến trong panel gồm:

- Gen alpha globin: SEA, THAI, FIL, 3.7, 4.2, HbQS, HbCS.

- Gen beta globin: cd95, cd41/42, cd17, IVS1.5, IVS1.1, IVS2-654, cd71/72, -28.

- HbE: cd26

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung

Bảng 1: Tỷ lệ huyết sắc tố theo giới

Huyết sắc tố	Nam		Nữ		p
	Số lượng	Tỷ lệ	Số lượng	Tỷ lệ	
Bình thường	98	15,3%	124	19,4%	p=0,605
Bất thường	193	30,2%	224	35,1%	
Tổng	291	45,5%	348	54,5%	

Nhận xét: Với 639 mẫu có hồng cầu nhỏ được thu thập tại tỉnh Sơn La, có 291 nam (chiếm 45,5%), trong đó mẫu có thành phần huyết sắc tố bình thường là 98 mẫu (chiếm 15,3%) và mẫu có thành phần huyết sắc tố bất thường là 193 (30,2%). Số mẫu là nữ giới là 348 (chiếm 54,5%), trong đó mẫu có thành phần huyết sắc tố bình thường là 124 mẫu (chiếm 19,4%) và mẫu có thành phần huyết sắc tố bất thường là 224 (30,2%). $p > 0,05$ sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Đặc điểm thành phần huyết sắc tố

Bảng 2: Đặc điểm kiểu hình huyết sắc tố ở cộng đồng người tỉnh Sơn La

	Kiểu hình huyết sắc tố	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Bình thường	HbA1+HbA2	222	34,7%
Beta thalassemia	HbA1+HbA2 tăng	74	12,1%
	HbA1+HbA2+HbF tăng	2	

	HbA1+HbA2 tăng+HbF tăng	1	
HbE	HbA1+HbE	265	41,5%
Alpha thalassemia	HbA1+HbH	7	1,1%
HbA2 giảm	HbA1+HbA2 giảm	62	9,7%
Huyết sắc tố hiếm gặp	HbTak	1	0,9%
	HbHekinan	4	
	HbWestmead	1	
Tổng		639	100%

Nhận xét: Qua bảng 2 nhận thấy trong 639 mẫu có nguy cơ mang gen bệnh, có 222 mẫu (chiếm 34,7%) có kiểu hình huyết sắc tố bình thường. Mẫu mang HbE chiếm tỷ lệ cao nhất với 265 mẫu (chiếm 41,5%). Tiếp đến, tỷ lệ mẫu có kiểu hình beta thalassemia là 77 mẫu (chiếm 12,1%). Trong đó, mẫu có kiểu hình (HbA1+HbA2 tăng) là chủ yếu, với 74 mẫu (chiếm 11,6%). Mẫu có kiểu hình alpha thalassemia là 7 mẫu (chiếm 1,1 %). Ngoài ra, ta còn nhận thấy một nhóm có kiểu hình huyết sắc tố (HbA1+HbA2 giảm) là 62 mẫu (chiếm 9,7%). Số mẫu phát hiện ra huyết sắc tố hiếm gặp như HbTak, HbHekinan, HbWestmead chiếm tỷ lệ nhỏ 1%.

3.3 . Mối liên quan giữa kiểu hình huyết sắc tố và phát hiện đột biến gen thalassemia

Bảng 3: Tỷ lệ phát hiện các đột biến gen thalassemia

	Kiểu hình huyết sắc tố	Số lượng	Đột biến gen			Tỷ lệ phát hiện gen
			Alpha	Beta	Alpha và Beta	
Bình thường	HbA1+HbA2	222	95	0	0	95 (42,8%)
Beta thalassemia	HbA1+HbA2 tăng	77	1	63	11	75 (97,4%)
	HbA1+HbA2+HbF tăng					
	HbA1+HbA2 tăng+HbF tăng					
HbE	HbA1+HbE	249		249		249 (100%)
HbE+Beta thalassemia	HbA1+HbE+ Beta thalassemia	16		16		16 (100%)
Alpha thalassemia	HbA1+HbH	7	7	0	0	7 (100%)
HbA2 giảm	HbA1+HbA2 giảm	62	52	0	0	52 (83,9%)
Huyết sắc tố hiếm gặp	HbTak	1	0	0	0	2 (33,3%)
	HbHekinan	4	1	0	0	
	HbWestmead	1	1	0	0	

Nhận xét: Ở nhóm beta thalassemia, với 77 mẫu có bất thường huyết sắc tố, phát hiện 74 mẫu có đột biến gen beta thalassemia (chiếm 96,1%), 1 mẫu có đột biến gen alpha thalassemia (chiếm 1,3%).

Tất cả các trường hợp phát hiện HbE đều có đột biến codon 26. Điều này cho thấy độ nhạy của phương pháp điện di huyết sắc tố đạt 100% đối với HbE.

Ở nhóm alpha thalassemia, với 7 mẫu có HbH đều phát hiện đột biến gen alpha (đạt 100%). Với 6 mẫu ở nhóm huyết sắc tố hiếm ta phát hiện được 2 mẫu có đột biến gen.

Còn với kiểu hình (HbA1+HbA2 giảm) điện di phát hiện được 62 trường hợp, nhưng có tới 52 trường hợp có tổn thương về gen alpha thalassemia (chiếm 83,9%).

Với 222 mẫu trong nhóm mang kiểu hình huyết sắc tố bình thường thì xét nghiệm gen lại phát hiện ra 95 mẫu có tổn thương về gen (chiếm 42,8%).

3.4. Một số đặc điểm ở nhóm huyết sắc tố HbE

Bảng 4: Mối liên quan giữa tỷ lệ HbE với đột biến gen thalassemia

Kết quả sinh học phân tử	HbE (%)
Đồng hợp codon 26 (n=51)	88,0 ± 1,67
Dị hợp codon 26 (n=198)	21,0 ± 3,58
Codon 26+Beta Thalassemia (n=16)	55,30 ± 5,21

Nhận xét: Qua bảng 5 thấy rằng, với nhóm phát hiện gen đồng hợp tử codon 26 có giá trị HbE cao, dao động khoảng 88,0 % ± 1,67.

Với nhóm phát hiện dị hợp tử codon 26 thì giá trị HbE thấp là 21,0% ± 3,58.

Đối với nhóm có codon 26 kết hợp đột biến gen beta tỷ lệ % HbE vào khoảng trung bình 55,30% ± 5.21.

IV. BÀN LUẬN

1. Đặc điểm thành phần huyết sắc tố

Với 639 mẫu có hồng cầu nhỏ được thu thập tại tỉnh Sơn La, có 291 nam (chiếm 45.5%), nữ giới là 348 (chiếm 54.5%), $p > 0,05$ sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Với phương pháp phân tích kiểu hình huyết sắc tố chúng tôi phát hiện được 63,5% số mẫu có bất thường huyết sắc tố. Trong đó 41,5% có HbE, 12,1% là beta thalassemia, 1,1% có kiểu hình alpha thalassemia, huyết sắc tố hiếm gặp chiếm 1% và nhóm có kiểu hình (A1+A2 giảm) chiếm 9,7%. Số lượng người hồng cầu nhỏ tại tỉnh Sơn La có biểu hiện bất thường huyết sắc tố trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn rất nhiều so với kết quả nghiên cứu trên địa bàn tỉnh Tuyên Quang của Đỗ Thị Thu Giang và cộng sự [6]. Điều này có thể được lý giải do các dân tộc của 2 nhóm đối tượng khác nhau hoặc cũng có thể các đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là cộng đồng người có hồng cầu nhỏ (đối tượng có nguy cơ mang gen cao).

2. Mối liên quan giữa thành phần huyết sắc tố và phát hiện đột biến gen globin

Việc sử dụng các đặc điểm MCV, MCH, điện di huyết sắc tố để sàng lọc ban đầu, thu hẹp các đối tượng cần được làm gen là mô hình mà nhiều nước đã thực hiện một cách hiệu quả.

Trong nghiên cứu này, ở nhóm beta thalassemia với 77 mẫu có bất thường huyết sắc tố, có tới 74 mẫu có đột biến gen beta thalassemia (chiếm 96,1%). Điều này cho thấy điện di huyết sắc tố là phương pháp sàng lọc hiệu quả. 3 trường hợp còn lại không phát hiện ra đột biến gen có thể là do đột biến của bệnh nhân này không nằm trong đoạn gen được lựa chọn để phát hiện đột biến beta thalassemia hoặc gen tổng hợp chuỗi beta không bị đột biến nhưng gen điều khiển hoạt động của gen tổng hợp chuỗi beta bị đột biến, dẫn đến sự tổng hợp bất thường chuỗi beta [7]. Ở nhóm alpha thalassemia, với kiểu hình HbA1+HbH có 7 mẫu và tất cả đều mang đột biến alpha (đạt 100%).

Tất cả các trường hợp phát hiện HbE đều có đột biến codon 26. Điều này cho thấy độ nhạy của phương pháp điện di huyết sắc tố đạt 100% đối với HbE.

Ở nhóm huyết sắc tố hiếm gặp phát hiện được 6 mẫu, trong đó 1 mẫu HbTak thuộc đột biến gen beta globin, 4 mẫu HbHekinan và 1 mẫu HbWestmead thuộc đột biến điểm gen alpha globin. Trong 5 trường hợp đột biến gen alpha globin có 2 trường hợp mang đột biến SEA và 3 trường hợp còn lại không phát hiện đột biến. Như vậy, ngoài các đột biến đã được phát hiện có thể các mẫu này còn có thêm các đột biến hiếm gặp nữa.

Với 62 mẫu kiểu hình HbA2 giảm tỷ lệ có tới 52 mẫu (chiếm 83,9%) có đột biến gen alpha. Như vậy, đây có thể là một chỉ điểm gợi ý bệnh nhân mang gen alpha thalassemia. 10 mẫu còn lại có thể do thiếu máu thiếu sắt hoặc do kỹ thuật PCR không phát hiện được hết.

Trong 222 mẫu không thấy kiểu hình huyết sắc tố bất thường thì xét nghiệm gen lại phát hiện ra 95 mẫu có tổn thương về gen alpha (chiếm 42,8%).

Qua đây nhóm nghiên cứu cũng đưa ra một số khuyến cáo trong việc chỉ định xét nghiệm chẩn đoán thalassemia: với những trường hợp phân tích thành phần huyết sắc tố có kiểu hình beta thalassemia hoặc (HbA1+HbH) độ tương thích giữa 2 phương pháp là rất cao. Còn với những trường hợp có tổng phân tích tế bào máu $MCV < 85fL$ và/hoặc $MCH < 28 pg$, làm xét nghiệm phân tích kiểu hình huyết sắc tố bình thường và tỷ lệ HbA2 giảm thì nên làm gen alpha thalassemia để có chẩn đoán chính xác nhất. Điều này hoàn toàn phù hợp với các tài liệu đã được công bố của Bain BJ.(2010) [3] hay hướng dẫn sử dụng máy HPLC về tính ưu việt của phương pháp này trong việc phân tích kiểu hình beta thalassemia [4]. Đây còn là một xét nghiệm cần thiết, tiết kiệm nhiều chi phí và có giá thành rẻ hơn rất nhiều so với xét nghiệm xác định đột biến gen. Nhưng khả năng phát hiện alpha thalassemia của phương pháp này còn hạn chế.

3. Một số đặc điểm ở nhóm huyết sắc tố HbE

Hemoglobin E (HbE) là một biến thể hemoglobin rất phổ biến trên nhiều quốc gia châu Á. Nó là đột biến điểm codon 26 trên gen beta làm acid glutamic bị thay thế bằng lysine. Một người có thể có đột biến này trong cả hai gen beta của họ được gọi là đồng hợp tử codon 26 và thường không có triệu chứng của bệnh thalassemia, ngoại trừ thiếu máu nhẹ và biến đổi chỉ số hồng cầu. Sự kết hợp của đột biến codon 26 với các đột

biến beta globin khác có thể dẫn đến những biểu hiện đa dạng trên lâm sàng. Chính vì vậy việc phát hiện đột biến Codon 26 (HbE) với một đột biến khác là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả thấy rằng tất cả các trường hợp phát hiện có bất thường HbE đều có đột biến codon 26, thể hiện tính thống nhất cao giữa phương pháp điện di huyết sắc tố phát hiện HbE và phương pháp sinh học phân tử để phát hiện đột biến codon 26. Từ nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ HbE phản ánh gián tiếp đến kiểu đột biến gen của bệnh nhân cụ thể như sau: Với tỷ lệ HbE cao (khoảng $88\% \pm 1,67$) có kiểu gen đồng hợp tử codon 26. Đối với nhóm có tỷ lệ HbE trung bình (khoảng $55,3\% \pm 5,21$) phát hiện đột biến codon 26 kết hợp đột biến gen beta globin. Tỷ lệ HbE thấp (khoảng $21,0\% \pm 3,58$) phát hiện dị hợp tử codon 26. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả được công bố của Suthat Fucharoen and David J. Weatherall [5]. Nhiều tác giả đã khuyến cáo chỉ cần dựa vào thành phần huyết sắc tố có HbE là có thể khẳng định có đột biến Codon 26.

V. KẾT LUẬN

- Qua phân tích 639 người có hồng cầu nhỏ tại tỉnh Sơn La phát hiện được 63,5% số mẫu có bất thường huyết sắc tố. Trong đó 41,5% có HbE, 12,1% là beta thalassemia, nhóm có HbA2 giảm chiếm 9,7%, 1,1% có kiểu hình alpha thalassemia và huyết sắc tố hiếm gặp chiếm 1%.

- Đối với kiểu hình beta thalassemia phương pháp điện di phát hiện đến 96%.

- Đối với kiểu hình HbE, alpha thalassemia bệnh HbH phương pháp điện di phát hiện 100%.

- Với kiểu hình HbA2 giảm và kiểu hình huyết sắc tố bình thường nên làm xét nghiệm xác định đột biến gen alpha globin.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đỗ Trung Phấn (2006)**, “Bệnh về huyết sắc tố. Bài giảng huyết học truyền máu”, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 190 - 198.
2. **Bộ Y Tế, Viện Huyết học – Truyền máu TW (2019)**, “Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh lý huyết học”, tr.238-249.
3. **Bain BJ (2010)** “Common hemoglobins of major importance” của Bain BJ.(2010). In: Bain BJ, Wild BJ, Stephens AD, Phelan LA, editors. Variant Hemoglobin: a Guide to Identification. 1 st ed. Blackwell Publishing Ltd, 41-44.
4. **Trinity Biotech (2011)**, “Ultra² with resolution software operator’s manual”.
5. **Suthat Fucharoen and David J. Weatherall (2012)**, “The Hemoglobin E Thalassemias”.
6. **Đỗ Thị Thu Giang và cs**, “Bước đầu nghiên cứu tần suất mang gen Thalassemia ở trẻ em người dân tộc thiểu số trên địa bàn tỉnh Tuyên Quang”, Tạp chí Y học Việt Nam tập 466, tr.517-524.
7. **Gregg L. Semenza và cs (1984)**, “The silent carrier allele: β thalassemia without a mutation in the β -globin gene or its immediate flanking regions”.
8. **John Old, Cornelis L., Hartevelde Joanne, et al. (2012)**. Prevention of thalassemia and other haemoglobin disorders, Volume II (2012), Thalassemia International Federation, 2nd edition