

## HOÀN THIỆN KỸ THUẬT LAI HUỖNH QUANG TẠI CHỖ (FISH) TRONG PHÂN TÍCH LỆCH BỘI NHIỄM SẮC THỂ TINH TRÙNG

Nguyễn Việt Trung<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huyền<sup>2</sup>, Trần Thị Huyền Trang<sup>1</sup>,  
Đào Ngọc Bắc<sup>1</sup>, Đoàn Thị Kim Phượng<sup>1</sup>, Lương Thị Lan Anh<sup>1</sup>,  
Phạm Đình Minh<sup>2</sup>, Vũ Thị Hà<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Tinh trùng lệch bội nhiễm sắc thể (NST) có thể trực tiếp gây ảnh hưởng xấu tới sức kết quả thai kỳ. Hiện nay, phương pháp lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) là một trong những kỹ thuật di truyền tế bào phổ biến nhất và có nhiều ưu điểm nổi trội trong việc xác định lệch bội các NST ở tế bào tinh trùng. **Mục tiêu:** Hoàn thiện quy trình kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ trong phân tích lệch bội nhiễm sắc thể từ tế bào tinh trùng.

**Đối tượng và phương pháp:** 15 mẫu tinh dịch được thực hiện lai huỳnh quang tại chỗ để phân tích tỉ lệ lệch bội NST tinh trùng tại Bộ môn Y sinh học – Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội và Trung tâm Xét nghiệm Quốc tế Gentis - Công ty Cổ phần Dịch vụ Phân tích Di truyền Gentis. **Kết quả:** 15/15 mẫu tinh trùng thực hiện thành công kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ để phân tích lệch bội cho 5 NST (13, 18, 21, X, Y). **Kết luận:** Kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) được thực hiện qua nhiều giai đoạn, mỗi giai đoạn đều có những đặc điểm riêng phù hợp với từng đặc điểm cấu tạo, tính chất màng tế bào và DNA tinh trùng để đảm bảo quy trình thành công và kết quả phân tích rõ ràng, cho phép phát hiện chính xác tỉ lệ lệch bội NST từ tế bào tinh trùng.

**Từ khóa:** Lai huỳnh quang tại chỗ, nhiễm sắc thể tinh trùng, lệch bội nhiễm sắc thể

### SUMMARY

#### THE COMPLETION OF FLUORESCENCE IN SITU HYBRIDIZATION (FISH) IN DETECTION OF CHROMOSOMAL ANEUPLOIDY IN HUMAN SPERM

Sperm aneuploidy can directly affect pregnancy outcomes. Actually, fluorescence in situ hybridization (FISH) is the most popular and dominant method of determining aneuploidy in sperm cells. **Objective** of our study was to complete the in situ fluorescence hybridization technique to analyze aneuploidy from sperm cells. **Methods:** 15 semen samples were conducted to FISH for analysis aneuploidy rate at the Center for Clinical Genetics and Genomics, Hanoi Medical University Hospital, and Gentis International testing centre, Gentis Genetic Analysis Services Joint Stock Company. **Results:** 15/15 sperm samples successfully performed in FISH to analyze sperm

aneuploidy for five chromosomes (13, 18, 21, X, Y).

**Conclusion:** The FISH technique has several stages, each with its own characteristics consistent with the structure, membrane properties and DNA of the sperm cell, to ensure a successful procedure and clear analytical results, allowing accurate detection of chromosomal aberrations from sperm cells.

**Keywords:** Fluorescence in situ hybridization, chromosomes of sperm cell, chromosomal aneuploidy.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phân tích tinh dịch ở nam giới là phương pháp cơ bản và trực quan nhất để đánh giá khả năng sinh sản của một người nam giới. Các chỉ số khi phân tích tinh dịch cơ bản bao gồm: Mật độ, số lượng, hình thái, khả năng di động,... nhưng thường không đánh giá được vật chất di truyền của các tế bào tinh trùng. Vật chất di truyền của tế bào tinh trùng có thể ảnh hưởng trực tiếp tới sự thụ tinh tử thông qua quá trình tạo phôi cũng như tới kết quả của thai kỳ, hậu quả trên lâm sàng có thể gặp như gây vô sinh trên người nam giới, gây sảy thai, thai lưu hoặc có thể là sinh ra con mắc các dị tật di truyền như lệch bội nhiễm sắc thể (NST). Đánh giá bất thường NST tinh trùng là một chỉ số cho phép đánh giá trực tiếp vật chất di truyền của tế bào tinh trùng.

Lai huỳnh quang tại chỗ (fluorescence in situ hybridization - FISH) là một trong những phương pháp phổ biến và hiệu quả nhất để đánh giá tình trạng lệch bội NST tinh trùng người<sup>1</sup>. Nguyên lý của kỹ thuật FISH là sử dụng mẫu DNA dò lai với trình tự ADN của mẫu bệnh phẩm bằng trình tự bổ sung, qua đó phát hiện, định vị được chuỗi ADN đặc hiệu qua phân tích dưới kính hiển vi huỳnh quang, xác định các bất thường NST cụ thể về số lượng hoặc cấu trúc. Kỹ thuật FISH thực hiện trên các tế bào còn nguyên vẹn màng tế bào, cho phép đánh giá vật chất di truyền ở từng tế bào riêng lẻ.

Trên thế giới, kỹ thuật FISH để phát hiện lệch bội NST tinh trùng đã được thực hiện từ lâu. Nhiều nghiên cứu cho thấy tỉ lệ lệch bội NST tinh trùng cao có liên quan đến các tình trạng vô sinh hiếm muộn, sảy thai nhiều lần do nam giới<sup>2,3</sup>, thậm chí ảnh hưởng tới kết quả của các biện pháp hỗ trợ sinh sản, đặc biệt là phương pháp

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Công ty Cổ phần Dịch vụ Phân tích Di truyền Gentis

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Thị Hà

Email: vuthiha@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 3.01.2023

Ngày phản biện khoa học: 22.2.2023

Ngày duyệt bài: 3.3.2023

tiêm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI)<sup>4</sup>. Ngoài ra, tỉ lệ lệch bội NST tinh trùng còn được cho là có mối liên hệ đáng kể với các chỉ số phân tích tinh dịch khác như: Mật độ, hình thái và độ di động của tinh trùng, mức độ phân mảnh DNA tinh trùng,...<sup>3</sup>

Ở Việt Nam, việc ứng dụng kỹ thuật FISH để phân tích bất thường NST tinh trùng còn rất mới. Kỹ thuật đòi hỏi quy trình thực hiện phức tạp và nghiêm ngặt, nhân lực được đào tạo chuyên sâu về thực hiện kỹ thuật, phân tích xét nghiệm cũng như tư vấn kết quả. Thực hiện kỹ thuật thành công cho phép các bác sĩ lâm sàng có thêm công cụ hỗ trợ để đánh giá khả năng sinh sản của nam giới cũng như việc áp dụng trong các nghiên cứu về các vấn đề vô sinh, hiếm muộn, bất thường sinh sản ở nam giới. Vì vậy, mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi là: *Hoàn thiện kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ để đánh giá bất thường lệch bội NST tinh trùng.*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu.** Đối tượng nghiên cứu đáp ứng các yêu cầu:

- Mẫu tinh dịch được lấy và bảo quản theo hướng dẫn của WHO 2021 cho phân tích tinh dịch đồ.

- Mẫu tinh dịch sau khi ly giải hoàn toàn sẽ được tiến hành phân tích cơ bản

Thời gian nghiên cứu: Từ 04/2022 đến 10/2022

Địa điểm: Bộ môn Y sinh học - Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội; Trung tâm Di truyền lâm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội; Trung tâm Xét nghiệm Quốc tế Gentis, Công ty Cổ phần Dịch vụ Phân tích Di truyền Gentis.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả cắt ngang

Quy trình thực hiện nghiên cứu:

- Lấy mẫu tinh dịch: Theo hướng dẫn của WHO (2021) cho mẫu để phân tích tinh dịch đồ

- Cố định tế bào: Nhược trương tế bào, sử dụng dung dịch Carnoy (3 Methanol: 1 Acid axetic) để rửa sạch và cố định tế bào tinh trùng trên các lam kính

- Bộc lộ DNA tinh trùng: Sử dụng Ethanol để khử nước và dung dịch Dithiothreitol (DTT) để bộc lộ DNA của tinh trùng

-Lai tín hiệu: Sử dụng bộ kit Cytocell prenatal enumeration FISH probe cho các NST: 13, 18, 21, X, Y.

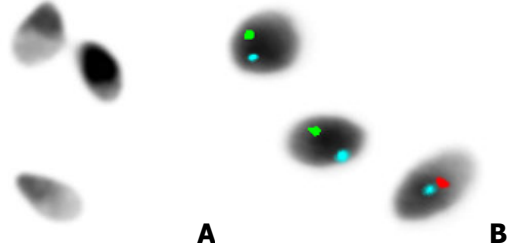
- Phân tích kết quả: Dựa trên các tiêu chuẩn nghiêm ngặt có sẵn

**2.3. Đạo đức nghiên cứu.** Các số liệu và

thông tin nghiên cứu là chính xác, trung thực, khách quan và được chấp thuận bởi cơ sở nghiên cứu. Bệnh nhân hoặc người giám hộ hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Bệnh nhân và người nhà bệnh nhân sẽ được thông báo về kết quả xét nghiệm để giúp cho các bác sĩ tư vấn di truyền hoặc lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp. Các thông tin cá nhân sẽ được đảm bảo bí mật và chỉ phục vụ công tác nghiên cứu.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**3.1. Cố định tế bào.** Trước khi cố định tế bào tinh trùng bằng dung dịch Carnoy, các tế bào tinh trùng được cho vào trong môi trường nhược trương (dung dịch KCl 0.42%) nhằm làm giãn nở không gian giữa các NST, khiến các sợi DNA dễ dàng được bộc lộ ở bước sau. Sau đó, tế bào tinh trùng được trải đều và cố định trên các lam kính.



**Hình 3.1.** Hình ảnh tín hiệu lai trong tế bào tinh trùng với các mức độ nhược trương khác nhau

A. Kết quả lai sau khi nhược trương tế bào chưa đủ, B. Kết quả lai sau khi nhược trương tế bào đủ

**Nhận xét:** Khi tế bào chưa được nhược trương đủ, màng tế bào có thể chưa được phá vỡ dẫn tới tinh trùng vẫn còn nguyên hình dạng và các sợi DNA khó để được bộc lộ ra, dẫn đến quá trình lai không thể thực hiện được.

Thao tác cố định tinh trùng trên lam kính cần đảm bảo các tế bào tinh trùng không dính vào nhau và mật độ cần đạt ngưỡng tối thiểu, tránh mật độ quá thấp dẫn đến quá trình phiên giải kết quả tốn nhiều thời gian. Sau khi cố định tế bào, cần kiểm tra lại mật độ tế bào tinh trùng dưới kính hiển vi.

**3.2. Bộc lộ DNA tinh trùng.** Các tế bào tinh trùng được khử nước từ từ bằng dung dịch Ethanol có nồng độ tăng dần (70 – 85 – 100%) với mục đích hạn chế tối đa sự tổn thương vật chất di truyền của tế bào khi khử nước quá nhanh. Sau đó, sử dụng dung dịch DTT để cắt đứt các cầu nối disulfua của protamine trong cấu trúc sợi nhiễm sắc, giúp bộc lộ DNA tinh trùng, cho phép quá trình lai diễn ra. Khi không sử dụng dung dịch DTT, sau khi thực hiện kỹ thuật,

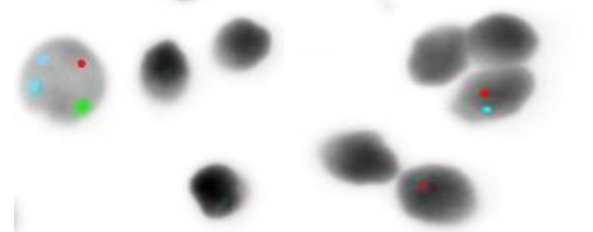
nhân thấy không có các tín hiệu lai trong tế bào tinh trùng.

**Bảng 3.1. Thời gian, nồng độ DTT tối ưu cho lai tín hiệu ở tế bào tinh trùng**

Tín hiệu lai	Thời gian tối ưu (2mM DTT)	Thời gian tối ưu (4mM DTT)
Probe 13, 21	15 phút	10 phút
Probe 18, X, Y	12 phút	8 phút

**Nhận xét:** Thời gian và nồng độ tối ưu của dung dịch DTT sử dụng khác nhau ở mỗi loại probe tương ứng với mỗi loại NST khác nhau để cho tín hiệu lai tốt nhất.

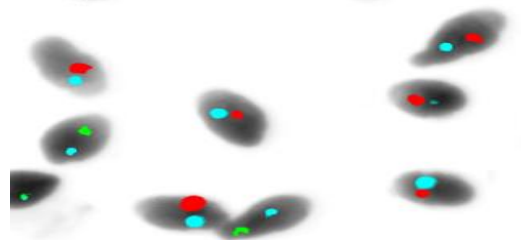
**3.3. Lai tín hiệu.** Bắt đầu quá trình lai bằng việc biến tính sợi DNA bằng dung dịch Formamide, sau đó phủ kín vùng chứa probe bằng băng lamen. Ủ slide trong buồng tối ở nhiệt độ 37°C.



Kết quả khi lai trong 2h; Kết quả khi lai trong 12h

**Nhận xét:** Thời gian lai khác nhau cho các kết quả khác nhau: Lai trong thời gian ngắn (2h), các tín hiệu lai chỉ xuất hiện ở các tế bào bạch cầu mà không có trong các tế bào tinh trùng. Khi thực hiện lai trong thời gian trung bình (12h), tín hiệu lai không rõ nét xuất hiện trong

một số tế bào tinh trùng, khi thực hiện lai trong thời gian dài (24h), tín hiệu lai rõ nét xuất hiện ở hầu hết các tế bào tinh trùng.



Kết quả khi lai trong 24h

**Hình 3.2. Hình ảnh tín hiệu huỳnh quang ở tế bào tinh trùng sau các thời gian lai khác nhau**

**3.4. Phân tích kết quả.** Kết quả lai được đọc trên kính hiển vi huỳnh quang với các filter lọc có thông số phù hợp với bước sóng phát ra từ các probe tương ứng. Việc đánh giá các tín hiệu lai trong tế bào cần đảm bảo các yêu cầu nghiêm ngặt<sup>1,5</sup>: Chỉ đánh giá các tế bào tinh trùng có đường viền nguyên vẹn và nhân giới hạn rõ ràng; các tín hiệu lai phải rõ ràng (trong một tế bào, khi có 2 tín hiệu lai cùng màu thì các tín hiệu phải cách nhau ít nhất một khoảng cách tương đương với 1 tín hiệu thăm dò). Các tế bào được coi là bất thường khi có nhiều hơn 1 tín hiệu cho cùng một NST được phát hiện. Khi không phát hiện được tín hiệu của một NST, cần xem xét đó là kết quả của sự lai thất bại hay do bất thường NST.

<b>Tình trạng bình thường</b>	Tinh trùng có một NST 18 và Y	Tinh trùng có một NST 18 và X	Tinh trùng có một NST 13 và 21	Tinh trùng có hai NST 18, X (lưỡng bội)
<b>Tình trạng bất thường</b>	Tinh trùng có hai NST 21 và một NST 13	Tinh trùng có một NST X, một NST Y và một NST 18	Tinh trùng có hai NST 18 và một NST Y	Tinh trùng có hai NST X và một NST 18

**Hình 3.3. Hình ảnh các tín hiệu lai bình thường và bất thường ở tế bào tinh trùng**

Tín hiệu màu sắc của các NST: NST 18 – màu xanh nước biển, NST Y – màu đỏ, NST X – màu xanh lá cây; NST 13 – màu xanh lá cây, NST 21 – màu đỏ.

**Nhận xét:** Các tế bào được phân tích dựa trên các tiêu chuẩn nghiêm ngặt có sẵn<sup>1,5</sup>. Vì số lượng các tế bào tinh trùng của mỗi người thường rất nhiều nhưng tỉ lệ dị bội lại rất thấp,

do vậy, cần phân tích số lượng lớn các tế bào tinh trùng để có thể phát hiện các tế bào dị bội. Tuy nhiên, việc đánh giá số lượng quá lớn cho mỗi bệnh nhân trong thực hành lâm sàng là không khả thi bởi tiêu tốn quá nhiều thời gian cũng như nhân công thực hiện. Theo nhiều nghiên cứu, để kết quả đánh giá được toàn diện và khách quan nhất, số lượng tế bào cần phân

tích cho mỗi bệnh nhân là ít nhất 1000 tế bào<sup>6</sup>.

**Bảng 3.3. Mật độ, số lượng tinh trùng và số tế bào tinh trùng được phân tích số lượng NST**

Tổng số tinh trùng (triệu/ ml)	Số lượng mẫu	Tín hiệu lai	Số tế bào phân tích (TB/ probe)
3 - 5	2	Tốt	Dưới 700
6 - 15	3	Tốt	Trên 1000
30 - 140	10	Tốt	Trên 1000

**Nhận xét:** Tất cả các mẫu tinh trùng đều được thực hiện thành công kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ. Tuy nhiên, những mẫu có tổng số tinh trùng từ 6 triệu tinh trùng trở xuống không đủ số lượng tế bào để tiến hành phân tích kết quả.

**IV. BÀN LUẬN**

Lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) là một kỹ thuật di truyền khó với quy trình gồm nhiều bước cùng thao tác phức tạp. Quy trình FISH sử dụng mẫu tinh dịch có nhiều điểm khác biệt so với mẫu các tế bào soma (mẫu máu ngoại vi, mẫu tế bào ối), vì vậy, quá trình thao tác quy trình đòi hỏi sự chính xác và kinh nghiệm từ người thực hiện được đào tạo chuyên sâu.

**Bảng 4.1. So sánh sự khác biệt của quy trình FISH trên tinh trùng và tế bào soma**

Giai đoạn	FISH trên tinh trùng	FISH trên TB soma
Cố định tế bào	Cần nhuộm trương tế bào đủ	Có thể nhuộm trương tế bào hoặc không
Bộ lộ DNA tinh trùng	Sử dụng dung dịch DTT để bộ lộ DNA tế bào	Không cần sử dụng dung dịch DTT
Phân tích kết quả	Đọc kết quả là tế bào đơn bội (n): 1 tín hiệu cho mỗi NST	Đọc kết quả là tế bào lưỡng bội (2n): 2 tín hiệu cho mỗi NST

Trong các tế bào soma và tế bào trứng, các sợi nhiễm sắc được cấu tạo bởi các nucleosome dựa trên các protein histone, nhưng trong tế bào tinh trùng, 85% protein histon được thay thế bằng protamine<sup>7, 8</sup>. Protamine có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tính toàn vẹn DNA của tinh trùng khỏi các gốc tự do và giúp ngưng tụ chất nhiễm sắc của tinh trùng, nén các sợi nhiễm sắc của tinh trùng chặt hơn gấp 10 lần so với ở các tế bào soma<sup>8</sup>. Chính sự nén chặt của chất nhiễm sắc trong tế bào tinh trùng là nguyên nhân dẫn đến sự khó bộ lộ sợi DNA khi thực hiện kỹ thuật FISH. Do đó, quá trình nhuộm trương tế bào cần thực hiện đủ thời gian để tế bào tinh trùng được mở rộng không gian chứa đựng các sợi nhiễm sắc, giúp các hoá chất sử

dụng dễ tiếp cận hơn với mỗi sợi nhiễm sắc. Giữa các phân tử protamine có các liên kết disulfide đóng vai trò làm ổn định sự ngưng tụ chất nhiễm sắc, bất hoạt tạm thời các sợi DNA, làm các sợi nhiễm sắc trở với hoạt động của các enzyme<sup>9</sup>. DTT là hoá chất có khả năng cắt đứt các cầu nối disulfide này, giúp giải phóng sợi DNA khỏi sự gắn kết với protamine để có thể tiến hành quá trình lai.

Với quy trình kỹ thuật được chúng tôi xây dựng, tỉ lệ thực hiện thành công là 100% (15/15 mẫu). Tuy nhiên, có 2 mẫu với số lượng tinh trùng dưới 5 triệu tinh trùng/mẫu, tuy vẫn lai thành công tín hiệu huỳnh quang nhưng không đáp ứng đủ số lượng tế bào để tiến hành phân tích. Các thao tác thực hiện quy trình: Ly tâm loại bỏ dịch nổi, cố định tế bào tinh trùng lên lam kính hay điện tích lai hoá là yếu tố làm mất một số lượng tinh trùng và khiến một số tinh trùng không được lai hoá. Những nguyên nhân này khiến số lượng tế bào thực tế được lai hoá là rất ít so với tổng số tế bào tinh trùng ban đầu có trong mẫu. Để khắc phục vấn đề này, các thao tác cần được thực hiện chính xác để tiết kiệm tối đa số tinh trùng thu được để phân tích.

Sự phân tích kết quả thu được cần dựa vào các tiêu chuẩn nghiêm ngặt đã được đưa ra từ nhiều tác giả<sup>1,5</sup> cũng như từ nhà sản xuất. Các tiêu chí nghiêm ngặt này đảm bảo sự khách quan để đánh giá kết quả. Phân tích số lượng lớn các tế bào cho mỗi mẫu là cần thiết để đảm bảo kết quả được chính xác, khách quan và toàn diện nhất. Tuy nhiên, việc phân tích một số lượng quá lớn cho mỗi mẫu là không khả thi. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy việc phân tích 1000 tinh trùng là cần thiết để cung cấp thông tin kết quả đáng tin cậy.

**V. KẾT LUẬN**

Trong số 15 mẫu tinh dịch thực hiện quy trình FISH, 100% các mẫu đều được thực hiện thành công kỹ thuật. Vì sự khác nhau giữa cấu trúc các loại tế bào, kỹ thuật lai huỳnh quang tại chỗ thực hiện trên tế bào tinh trùng không thể dùng các quy trình thông thường áp dụng trên tế bào lympho máu ngoại vi. Quy trình đòi hỏi người thực hiện cần được đào tạo chuyên sâu và có nhiều kinh nghiệm về việc thực hiện kỹ thuật cũng như phân tích kết quả.

Quy trình kỹ thuật của chúng tôi vẫn còn một số nhược điểm về yêu cầu số lượng tinh trùng trong mẫu ban đầu. Việc cải tiến kỹ thuật là điều cần thiết để nâng cao hiệu quả và đơn giản hoá quy trình kỹ thuật FISH thực hiện ở tế bào tinh trùng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hwang K, Weedn JW, Lamb DJ.** The use of fluorescent in situ hybridization in male infertility. *Ther Adv Urol.* 2010;2(4):157-169. doi:10.1177/1756287210373758
2. **Al-Hassan S, Hellani A, Al-Shahrani A, Al-Deery M, Jaroudi K, Coskun S.** Sperm chromosomal abnormalities in patients with unexplained recurrent abortions. *Arch Androl.* 2005;51(1):69-76. doi:10.1080/014850190518062
3. **Zidi-Jrah I, Hajlaoui A, Mougou-Zerelli S, et al.** Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2016;105(1):58-64. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.09.041
4. **Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J.** Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril.* 1995;64(2):382-391.
5. **Male infertility: establishing sperm aneuploidy thresholds in the laboratory - PMC.** Accessed November 6, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6439035/>
6. **Sperm aneuploidy: when to stop counting? - Fertility and Sterility.** Accessed November 6, 2022. [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(09\)02795-2/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(09)02795-2/fulltext)
7. **The Art of Packaging the Sperm Genome: Molecular and Structural Basis of the Histone-To-Protamine Exchange - PMC.** Accessed November 6, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9258737/>
8. **Akmal M, Aulanni'am A, Widodo MA, Sumitro SB, Purnomo BB, Widodo.** The important role of protamine in spermatogenesis and quality of sperm: A mini review. *Asian Pacific Journal of Reproduction.* 2016;5(5):357-360. doi:10.1016/j.apjr.2016.07.013
9. **Thioredoxin-dependent disulfide bond reduction is required for protamine eviction from sperm chromatin - PubMed.** Accessed November 6, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28031247/>

## DỊCH THUẬT VÀ THẨM ĐỊNH BỘ CÂU HỎI VỀ KIẾN THỨC BỆNH HEN PHẾ QUẢN CỦA BỆNH NHÂN - PAKQ

Lê Bảo Trà Giang<sup>1</sup>, Nguyễn Quốc Hòa<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Khôi<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Dịch thuật, điều chỉnh và đánh giá bộ câu hỏi về kiến thức bệnh hen phế quản của bệnh nhân (BN) – PAKQ (The Patient – completed Asthma Knowledge Questionnaire) phiên bản tiếng Việt. **Phương pháp:** Quá trình dịch thuật và điều chỉnh bộ câu hỏi PAKQ dựa theo hướng dẫn của Beaton và cộng sự gồm 5 bước: dịch thuận, tổng hợp, dịch ngược, đánh giá bởi hội đồng chuyên gia, khảo sát pilot trên 35 BN hen phế quản. Sau đó, một nghiên cứu cắt ngang mô tả được thực hiện bằng cách phỏng vấn 345 BN hen phế quản đến khám tại Khoa Thăm dò chức năng hô hấp Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Tính nhất quán nội tại (Internal Consistency) được đánh giá bằng hệ số tương quan biến-tổng (Corrected Item - Total Correlation) và hệ số Cronbach's alpha. Độ lặp lại (Test- retest) được đánh giá sau 2 tuần bằng hệ số tương quan nội ICC (Intraclass Correlation Coefficient). **Kết quả:** Bộ câu hỏi PAKQ phiên bản tiếng Việt có mức tương đương cao với phiên bản gốc cho cả 4 tiêu chí: ngữ nghĩa (0,99), thành ngữ (0,99), trải nghiệm (1,00) và khái niệm (1,00). Bộ câu hỏi đạt tính nhất quán nội tại với hệ số Cronbach's alpha tổng thể là 0,933 và hệ số

Cronbach's alpha từng khía cạnh là 0,793 (Sinh lý bệnh hen phế quản); 0,790 (Các yếu tố khởi phát cơn hen); 0,849 (Chẩn đoán và kiểm soát hen) và 0,582 (Điều trị hen phế quản). Bộ câu hỏi đạt độ lặp lại với hệ số ICC tổng thể là 0,913 và ICC từng khía cạnh lần lượt là 0,852; 0,850; 0,857 và 0,801. **Kết luận:** Bộ câu hỏi PAKQ phiên bản tiếng Việt là một công cụ tin cậy để đánh giá kiến thức về bệnh hen phế quản ở bệnh nhân trưởng thành tại Việt Nam.

**Từ khóa:** Hen phế quản, PAKQ, bộ câu hỏi, kiến thức, bệnh nhân, dịch, thẩm định.

### SUMMARY

#### TRANSLATION AND VALIDATION OF THE VIETNAMESE VERSION OF THE PATIENT – COMPLETED ASTHMA KNOWLEDGE QUESTIONNAIRE (PAKQ)

**Objectives:** To translate and validate the Vietnamese version of The Patient – completed Asthma Knowledge Questionnaire (PAKQ). **Methods:** Translation and cross-cultural adaptation of the PAKQ into Vietnamese based on the guidelines of Beaton et al. were undertaken in five stages: forward translation, synthesis, back translation, expert committee review, pilot testing with 35 patients with asthma. Subsequently, a cross-sectional study was conducted on 345 patients with asthma at the University Medical Center in Ho Chi Minh City, Vietnam. Internal consistency was evaluated using Cronbach's alpha and Corrected Item – Total Correlation. Test- retest was assessed over the two-week interval by using the intraclass correlation coefficient (ICC) among patients

<sup>1</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Ngọc Khôi

Email: nnkhoi@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 2.01.2023

Ngày phản biện khoa học: 22.2.2023

Ngày duyệt bài: 3.3.2023