

Xác nhận hiệu năng phân tích và khoảng tham chiếu HbA₂, HbF trên hệ thống MINICAP Flex Piercing tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang

Nguyễn Thị Thu Trang^{1*}, Lương Thị Nghĩa Hằng¹, Đỗ Tiến Dũng²,

Nguyễn Ngọc Dũng³, Lưu Thị Chính⁴

¹Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang, 44 Lê Duẩn,
phường Minh Xuân, tỉnh Tuyên Quang, Việt Nam

²Bệnh viện Nội tiết Trung ương, đường Nguyễn Bô,
phường Yên Sở, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Huyết học Truyền máu Trung ương, 5 Phạm Văn Bạch,
phường Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

⁴Trường đại học Y tế Công cộng, 1A Đức Thắng,
phường Đông Ngạc, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/6/2026; ngày chuyển phản biện 19/6/2026;

ngày nhận phản biện 5/7/2026; ngày chấp nhận đăng 23/7/2026

Tóm tắt:

Mục tiêu: Xác nhận giá trị sử dụng và khoảng tham chiếu của phương pháp định lượng HbA₂ (huyết sắc tố A₂), HbF (huyết sắc tố bào thai) ở người trên hệ thống điện di huyết sắc tố mao quản MINICAP Flex Piercing tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang năm 2026. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu kết hợp thực nghiệm phòng xét nghiệm theo hướng dẫn CLSI EP15-A3, CLSI EP06 và mô tả cắt ngang trên 40 người trưởng thành khỏe mạnh (18-60 tuổi) để xác nhận khoảng tham chiếu theo CLSI EP28-A3c. **Kết quả:** Độ chụm của hệ thống đạt yêu cầu, với hệ số biến thiên (CV%) về độ lặp lại và độ tái lập ở hai mức nội kiểm đôi với HbA₂ đều dưới 2,13%; đối với HbF, CV% ở mức nội kiểm bệnh lý duy nhất đều dưới 0,62%. Độ chệch (Bias%) của %HbA₂ từ 1,00 đến 2,73%, nằm trong giới hạn cho phép ($\leq 2,90\%$); Bias% của %HbF 1,48%. Khoảng tuyến tính được xác nhận từ 2,80-6,55% với HbA₂ ($R^2=0,9983$); 0,00-26,35% với HbF ($R^2=0,9988$). Trên 40 người khỏe mạnh, 100% kết quả nằm trong khoảng tham chiếu dự kiến của nhà sản xuất. **Kết luận:** Phương pháp định lượng HbA₂ và HbF trên hệ thống MINICAP Flex Piercing đáp ứng các tiêu chí về hiệu năng phân tích và phù hợp triển khai trong điều kiện phòng xét nghiệm hiện tại. Khoảng tham chiếu dự kiến phù hợp với nhóm đối tượng nghiên cứu, có thể áp dụng tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang.

Từ khóa: điện di mao quản, huyết sắc tố A₂, huyết sắc tố bào thai, khoảng tham chiếu, MINICAP Flex Piercing, xác nhận giá trị sử dụng.

Chỉ số phân loại: 2.6, 3.2

*Tác giả liên hệ: Email: Trangbong270609@gmail.com

Analytical performance verification and reference intervals for HbA₂ and HbF in adults using the MINICAP Flex Piercing system at Tuyen Quang Provincial General Hospital

**Thi Thu Trang Nguyen^{1*}, Thi Nghia Hang Luong¹, Tien Dung Do²,
Ngoc Dung Nguyen³, Thi Chinh Luu⁴**

*¹Tuyen Quang Provincial General Hospital, 44 Le Duan Street,
Minh Xuan Ward, Tuyen Quang Province, Vietnam*

²National Hospital of Endocrinology, Nguyen Bo Street, Yen So Ward, Hanoi, Vietnam

*³National Institute of Hematology and Blood Transfusion, 5 Pham Van Bach Street,
Cau Giay Ward, Hanoi, Vietnam*

*⁴Hanoi University of Public Health, 1A Duc Thang Street,
Dong Ngac Ward, Hanoi, Vietnam*

Received 17 June 2026; revised 5 July 2026; accepted 23 July 2026

Abstract:

Objective: Verification of analytical performance and reference intervals of HbA₂ and HbF in adults using the MINICAP Flex Piercing capillary hemoglobin electrophoresis system at Tuyen Quang Provincial General Hospital in 2026. **Subjects and Methods:** A combined study was conducted, including a laboratory experimental evaluation following CLSI EP15-A3 and CLSI EP06 guidelines, together with a cross-sectional study involving 40 healthy adults aged 18-60 years to verify reference intervals according to CLSI EP28-A3c. **Results:** The analytical precision of the system met the predefined acceptance criteria, with repeatability and within-laboratory reproducibility coefficients of variation (CV%) below 2.13% for HbA₂ while the CV% for HbF at the single pathological control level was below 0.62%. The bias of HbA₂ ranged from 1.00 to 2.73%, remaining within the allowable limit ($\leq 2.90\%$), while the bias of HbF was 1.48%. The verified linear analytical ranges were 2.80-6.55% for HbA₂ ($R^2=0.9983$) and 0.00-26.35% for HbF ($R^2=0.9988$). Among the 40 healthy participants, all results (100%) fell within the manufacturer's proposed reference intervals. **Conclusions:** The HbA₂ and HbF quantification method on the MINICAP Flex Piercing system demonstrated acceptable analytical performance for routine laboratory use. The verified reference intervals are suitable for the local study population and applicable at Tuyen Quang Provincial General Hospital.

Keywords: capillary electrophoresis, hemoglobin A₂, hemoglobin F, MINICAP Flex Piercing, method verification, reference interval.

Classification numbers: 2.6, 3.2

1. Đặt vấn đề

Theo Higgs và cộng sự (2012), thalassemia là một trong những bệnh di truyền phổ biến nhất trên thế giới, với ít nhất 60.000 trường hợp bị ảnh hưởng nặng được sinh ra mỗi năm [1]. Tại Việt Nam, Thalassemia đã được ghi nhận trên phạm vi toàn quốc với tỷ lệ mang gen chung trong cộng đồng lên tới 13,8%, tương đương với khoảng 13-14 triệu người mang gen di truyền [1]. Người bệnh thể nặng phải đối mặt với quy trình truyền máu và thải sắt suốt đời, làm suy giảm chất lượng cuộc sống và kiệt quệ kinh tế gia đình. Đặc biệt, tại các tỉnh miền núi phía Bắc, tỷ lệ mang gen ở các cộng đồng dân tộc thiểu số như Sán Chay, Tày, Dao ghi nhận mức rất cao, dao động từ 25,46 đến 31,7%, theo nghiên cứu của B.Q. Khanh và cs (2021) [2]. Tại Tuyên Quang, theo N.H. Dao và cs (2021) [3] các số liệu sàng lọc tiền hôn nhân ghi nhận tỷ lệ mang gen Thalassemia tại một số địa phương lên đến 34,6%, đặt ra yêu cầu cấp thiết về năng lực sàng lọc chính xác tại tuyến y tế tỉnh.

Trong quy trình tầm soát và định hướng chẩn đoán β -thalassemia, việc định lượng các phân đoạn huyết sắc tố HbA₂ và HbF giữ vai trò quyết định lâm sàng. Đối với người mang gen β -thalassemia thể dị hợp tử, giá trị %HbA₂ tăng trên ngưỡng cắt sinh lý 3,5% là dấu ấn kiểu hình đặc trưng quan trọng nhất. Hiện nay, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang đã đưa vào vận hành hệ thống điện di mao quản MINICAP Flex Piercing (Sebia, Pháp) nhằm tự động hóa quy trình phân tích thành phần huyết sắc tố. Nhà sản xuất công bố khoảng tham chiếu đối với HbA₂ là 2,2-3,2% và HbF <0,5% dựa trên quần thể người nước ngoài, đồng thời khuyến cáo các phòng xét nghiệm cần thực hiện xác thực lại hiệu năng phân tích phù hợp với điều kiện thực tế.

Theo yêu cầu nghiêm ngặt của tiêu chuẩn chất lượng ISO 15189:2022 và hướng dẫn quản lý chất lượng hiện hành, trước khi áp dụng một phương pháp xét nghiệm định lượng vào phục vụ lâm sàng thường quy, phòng xét nghiệm bắt buộc phải cung cấp bằng chứng khách quan chứng minh phương pháp đạt được các thông số kỹ thuật công bố. Xuất phát từ cơ sở thực tiễn đó, chúng tôi thực hiện đề tài này với hai mục tiêu cụ thể: (1) Xác nhận giá trị sử dụng của xét nghiệm định lượng HbA₂ và HbF trên hệ thống MINICAP Flex Piercing qua các thông số độ chụm, độ chệch và khoảng tuyến tính; (2) Xác nhận khoảng tham chiếu của HbA₂ và HbF ở người trưởng thành trên hệ thống MINICAP Flex Piercing tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang năm 2026.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế kết hợp hai giai đoạn:

- Nghiên cứu thực nghiệm đánh giá hiệu năng thiết bị trong phòng xét nghiệm tuân thủ hướng dẫn CLSI EP15-A3 (2014) [4] và CLSI EP06 (2020) [5] (cho mục tiêu 1).

- Nghiên cứu mô tả cắt ngang chọn mẫu thuận tiện có sàng lọc tiêu chuẩn để xác nhận khoảng tham chiếu theo chuẩn CLSI EP28-A3c (2010) [6] (cho mục tiêu 2).

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành tại Khoa Huyết học - Truyền máu, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang. Thời gian thu thập số liệu thực nghiệm và mẫu bệnh phẩm diễn ra từ ngày 25/05/2026 đến ngày 10/06/2026.

2.3. Vật liệu và đối tượng nghiên cứu

Vật liệu thực nghiệm (mục tiêu 1): Sử dụng các mẫu nội kiểm thương mại chính hãng Sebia còn nguyên hạn sử dụng, bảo quản nghiêm ngặt ở nhiệt độ 2-8°C. Bao gồm: Mẫu nội kiểm mức bình thường (Normal HbA₂ Control) và mẫu nội kiểm mức bệnh lý (Pathological HbA₂ Control, Hb AFSC Control). Các mẫu này được phối trộn theo các tỷ lệ xác định để đánh giá khoảng tuyến tính.

+ Normal HbA₂ Control: Nhà sản xuất Sebia; phân phối: Công ty TNHH Thiết bị y tế Anh Phát; Lot: 04053/**; hạn sử dụng: 2027/01.

+ Pathological HbA₂ Control: Nhà sản xuất Sebia; phân phối: Công ty TNHH Thiết bị y tế Anh Phát; Lot: 04025/**; hạn sử dụng: 2029/01.

+ Hb AFSC Control: Nhà sản xuất Sebia; phân phối: Công ty TNHH Thiết bị y tế Anh Phát; Lot: 12055/54; hạn sử dụng: 2029/04.

Đối tượng nghiên cứu (mục tiêu 2): Người trưởng thành đến khám sức khỏe tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang năm 2026.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Tuổi từ 18-60; khám lâm sàng hoàn toàn bình thường; các chỉ số xét nghiệm huyết học và sinh hóa nằm trong dải sinh lý bình thường bao gồm lượng huyết sắc tố Hemoglobin (HGB), thể tích khối hồng cầu $MCV \geq 85$ fl, lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu $MCH \geq 28$ pg, dải phân bố kích thước hồng cầu RDW-CV bình thường, Ferritin bình thường, Glucose máu bình thường.

Tiêu chuẩn loại trừ: Có tiền sử bệnh lý huyết học hoặc truyền máu trong vòng 3 tháng, phụ nữ đang mang thai, tình trạng thiếu sắt (Ferritin giảm), rối loạn đường máu, phát hiện các phân đoạn hemoglobin bất thường trên điện di huyết sắc tố hoặc tiêu bản điện di không đạt tiêu chuẩn kỹ thuật.

2.4. Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu

Mục tiêu 1: Độ chụm (độ tái lập) và độ chệch: thực hiện theo CLSI EP15-A3, sử dụng 2 mức mẫu nội kiểm, mỗi mức chạy 5 lần/ngày trong 5 ngày, thu được 25 kết quả cho mỗi mức, tổng cộng 50 kết quả đo. Độ lặp lại thực hiện theo CLSI EP15-A3 (2014) [4], sử dụng 2 mức mẫu nội kiểm, mỗi mức chạy 25 lần/ngày. Khoảng tuyến tính: thực hiện theo CLSI EP06, sử dụng 5 mức nồng độ được tạo từ mẫu nội kiểm mức bình

thường và bệnh lý, mỗi mức đo 2 lần lặp lại, tổng cộng 10 kết quả đo cho mỗi thông số.

Mục tiêu 2: Theo CLSI EP28-A3c (2010) [6], khi xác nhận khoảng tham chiếu đã có sẵn, tối thiểu cần 20 cá thể tham chiếu cho một khoảng tham chiếu. Trong nghiên cứu này, theo nhà sản xuất Sebia (2020) [7] công bố 1 khoảng tham chiếu HbA₂ và 01 khoảng tham chiếu HbF cho người trưởng thành. Vì vậy, nghiên cứu lựa chọn 40 người trưởng thành khỏe mạnh không nhằm thiết lập khoảng tham chiếu mới mà nhằm xác nhận khả năng áp dụng khoảng tham chiếu dự kiến trong điều kiện phòng xét nghiệm tại đơn vị.

2.5. Trang thiết bị và kỹ thuật xét nghiệm

Hệ thống phân tích chính là máy điện di mao quản tự động MINICAP Flex Piercing (Sebia, Pháp) kết hợp bộ kit hóa chất MINICAP Hemoglobin(E). Quy trình vận hành, bảo dưỡng định kỳ bằng dung dịch chuyên dụng CapiClean tuân thủ nghiêm ngặt tài liệu kiểm soát mã số HH.KT28 của khoa. Các xét nghiệm sàng lọc nền tảng được thực hiện đồng bộ trên hệ thống máy đếm tế bào Cell-Dyn Ruby (HGB, MCV, MCH, RDW-CV) và máy phân tích hóa sinh/miễn dịch AU480/AU680/DxI800 (Ferritin, Glucose).

2.6. Tiêu chí chấp nhận hiệu năng và công thức thống kê

Độ chụm: Hệ số biến thiên thực tế của phòng xét nghiệm CV_{PXN} (%) nhỏ hơn hoặc bằng hệ số biến thiên công bố của nhà sản xuất CV_{NSX} (%) ghi trên tài liệu hướng dẫn sử dụng của vật liệu kiểm chứng: $CV_{PXN} (\%) \leq CV_{NSX} (\%)$

Độ chệch: Tính toán theo công thức:

- Đối với HbA₂, tiêu chí đạt yêu cầu khi $|Bias\%| \leq 2,90\%$ dựa trên spec chất lượng biến thiên sinh học Westgard/Ricos.

- Đối với HbF, do chưa có spec sinh học đồng thuận, giới hạn Allowable Bias% được thiết lập chặt chẽ trực tiếp từ dải giới hạn chấp nhận của lô mẫu QC thực tế sử dụng. Cách tính như sau: Allowable Bias (%) = [(Giới hạn trên của QC - Giá trị đích)/Giá trị đích] × 100 hoặc Allowable Bias (%) = [(Giá trị đích - Giới hạn dưới của QC)/Giá trị đích] × 100.

Lot hóa chất sử dụng trong nghiên cứu: Hb AFSC Control, Lot 12055/54; hạn sử dụng: 2029/04. Dải giới hạn chấp nhận của nhà sản xuất cung cấp: $26,5\% \pm 2,7$.

Cách tính: $[(26,5 + 2,7) - 26,5] / 26,5 \times 100 = 10,19\%$

Như vậy: $|Bias\%| \leq 10,19\%$.

Độ tuyến tính: Đạt yêu cầu khi hệ số xác định hồi quy tuyến tính bậc nhất đạt $R^2 \geq 0,990$ (hệ số tương quan Pearson $r \geq 0,995$) và tỷ lệ sai khác phần trăm (deviation) tại tất cả các điểm trộn trung gian so với kỳ vọng lý thuyết pha loãng không vượt quá giới

hạn sai số cho phép lâm sàng là 10,0%.

Xác nhận khoảng tham chiếu: Đạt yêu cầu khi có không quá 10% số đối tượng khỏe mạnh khảo sát (tương đương <4/40 mẫu) nằm ngoài giới hạn tham chiếu dự kiến làm mốc (HbA₂: 2,2-3,2%; HbF: <0,5%).

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu đã thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh số 153/2026/YTCC - HD3 ngày 15 tháng 5 năm 2026 của Trường Đại học Y tế Công cộng và được Ban Giám đốc Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang phê duyệt. Đối tượng tham gia nghiên cứu được giải thích đầy đủ ý nghĩa lâm sàng và tự nguyện ký phiếu cam đoan đồng ý. Toàn bộ thông tin cá nhân và dữ liệu hành chính được mã hóa bảo mật tuyệt đối, lưu giữ an toàn bằng hệ thống mã hóa chuyên biệt.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (mục tiêu 1)

3.1.1. Kết quả xác nhận độ chụm

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ lặp lại (Repeatability) của %HbA₂ và %HbF trên mẫu nội kiểm.

Chỉ số	Mức nội kiểm	n	Giá trị trung bình	SD	CV _r % quan sát được	CV _r % công bố/tiêu chí chấp nhận (CV _{NSX})	Kết luận
%HbA ₂	Bình thường	25	2,81	0,06	2,13	8,93	Đạt
	Bệnh lý	25	6,58	0,06	0,84	7,14	Đạt
%HbF	Bệnh lý	25	26,11	0,16	0,62	5,09	Đạt

Kết quả bảng 1 cho thấy CV_r quan sát của HbA₂ dao động 0,84-2,13% và HbF là 0,62%, đều thấp hơn tiêu chí chấp nhận của nhà sản xuất.

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ tái lập (Within-Lab Precision) của %HbA₂ và %HbF trên mẫu nội kiểm.

Chỉ số	Mức nội kiểm	n	Giá trị trung bình	SD	CV _{wl} % quan sát được	CV _{wl} % công bố/tiêu chí chấp nhận (CV _{NSX})	Kết luận
%HbA ₂	Bình thường	25	2,77	0,05	1,65	8,93	Đạt
	Bệnh lý	25	6,49	0,10	1,56	7,14	Đạt
%HbF	Bệnh lý	25	26,31	0,16	0,59	5,09	Đạt

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, trong điều kiện đánh giá độ tái lập (n=25), hệ thống ghi nhận đối với %HbA₂, giá trị CV% quan sát được ở mức bình thường là 1,65% và ở mức bệnh lý là 1,56% đều thấp hơn giới hạn cho phép. Đối với %HbF, hệ số biến thiên tái lập đạt 0,59%, thấp hơn mức tiêu chuẩn 5,09%.

3.1.2. Kết quả xác nhận độ chệch

Bảng 3. Kết quả xác nhận độ chệch của %HbA₂ và %HbF trên mẫu nội kiểm.

Chỉ số	Mức nội kiểm	n	Giá trị trung bình quan sát được	Giá trị đích	Độ chệch tuyệt đối	Bias%	Giới hạn chấp nhận (CV _{NSX} %)	Kết luận
%HbA ₂	Bình thường	25	2,77	2,80	0,03	1,00	2,90%	Đạt
	Bệnh lý	25	6,47	6,30	0,17	2,73	2,90%	Đạt
%HbF	Bệnh lý	25	26,11	26,50	0,39	1,48	10,19%	Đạt

Tại bảng 3, kết quả đánh giá độ đúng thông qua mẫu kiểm chuẩn (n=25) cho thấy độ lệch (Bias%) của HbA₂ đạt 1,00 và 2,73%, đều nằm trong giới hạn chấp nhận cho phép là ± 2,90%. Đối với HbF, giá trị Bias% ghi nhận là 1,48%, giới hạn chấp nhận 10,19%.

3.1.3. Kết quả xác nhận khoảng tuyến tính

Bảng 4. Kết quả đánh giá khoảng tuyến tính của HbA₂.

Mức nồng độ	Tỷ lệ bình thường: mẫu bệnh lý	Giá trị kỳ vọng	Lần 1	Lần 2	Giá trị trung bình quan sát được	Sai khác (%)
L1	100:0	2,80	2,8	2,8	2,80	0,00
L2	75:25	3,74	3,7	3,7	3,70	1,07
L3	50:50	4,68	4,7	4,7	4,70	0,43
L4	25:75	5,61	5,8	5,7	5,75	2,50
L5	0:100	6,55	6,5	6,6	6,55	0,00

Kết quả bảng 4 khảo sát dải pha loãng 5 mức nồng độ (từ L1 đến L5) của %HbA₂ cho thấy, tại các mức nồng độ trung gian, tỷ lệ sai khác phần trăm là không đáng kể, với mức sai khác lớn nhất ghi nhận được chỉ là 2,50% tại mức L4 (tỷ lệ 25:75).

Bảng 5. Kết quả đánh giá khoảng tuyến tính của %HbF.

Mức nồng độ	Tỷ lệ bình thường:mẫu bệnh lý	Giá trị kỳ vọng	Lần 1	Lần 2	Giá trị trung bình quan sát được	Sai khác (%)
L1	100:0	0,00	0	0	0,00	0,00
L2	75:25	6,59	6,9	7,1	7,00	6,26
L3	50:50	13,18	14,0	13,7	13,85	5,12
L4	25:75	19,76	19,4	19,6	19,50	1,33
L5	0:100	26,35	26,3	26,4	26,35	0,00

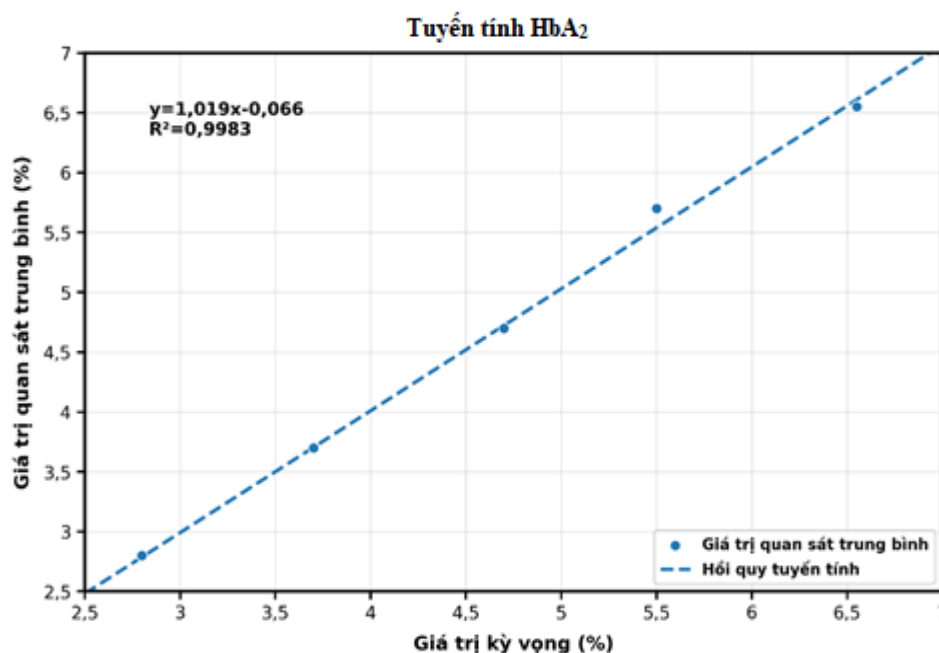
Kết quả khảo sát ở bảng 5 cho thấy, dải pha loãng 5 mức nồng độ (từ L1 đến L5) đối với chỉ số %HbF trên hệ thống điện di mao quản MINICAP Flex Piercing cho thấy, các giá trị trung bình quan sát được bám rất sát chuỗi giá trị kỳ vọng lý thuyết. Tại các mức nồng độ trung gian (L2, L3, L4), tỷ lệ sai khác phần trăm dao động ở mức thấp từ 1,33 đến 6,26%, trong đó sai khác lớn nhất ghi nhận được là 6,26% tại mức L2 (tỷ lệ 75:25).

Bảng 6. Tóm tắt kết quả xác nhận khoảng tuyến tính của phương pháp.

Chỉ số	Phương trình hồi quy	R ²	Sai khác lớn nhất (%)	Khoảng tuyến tính xác nhận được	Kết luận
%HbA ₂	$y=1,019x-0,066$	0,9983	2,50	2,80-6,55	Đạt
%HbF	$y=0,99x+0,298$	0,9988	6,26	0,0-26,35	Đạt

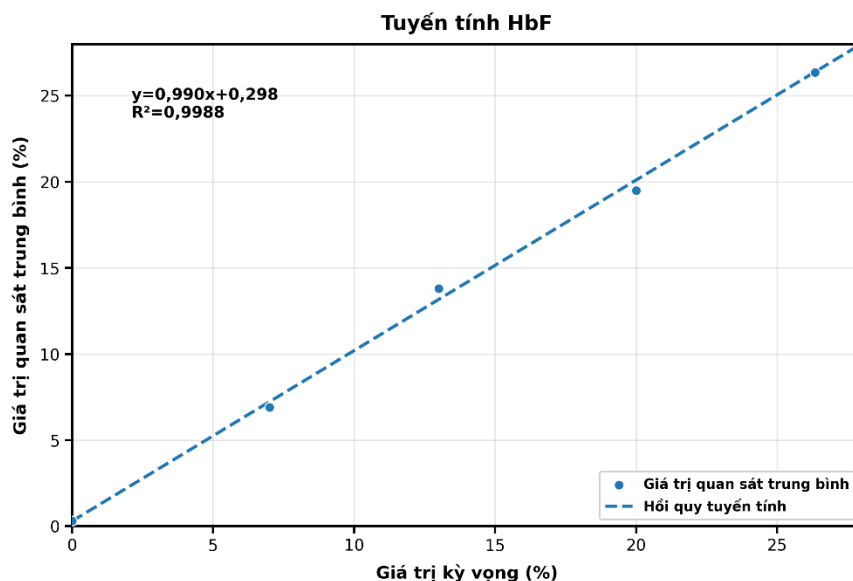
Bảng 6 kết quả tóm tắt cho thấy, cả hai chỉ số khảo sát là %HbA₂ và %HbF đều thỏa mãn toàn bộ các tiêu chí chấp nhận về độ tuyến tính.

Các phương trình hồi quy được trình bày thống nhất với dữ liệu vẽ biểu đồ; R² của cả hai chỉ số đều $\geq 0,990$ và sai khác tại các mức phối trộn nằm trong giới hạn $\pm 10\%$.



Biểu đồ 1. Mối tương quan giữa giá trị kỳ vọng và giá trị quan sát được của HbA₂

Biểu đồ 1 diễn giải mối tương quan giữa giá trị kỳ vọng và giá trị quan sát trung bình. Phương trình hồi quy tuyến tính là $y=1,019x-0,066$ với hệ số xác định $R^2=0,9983$, cho thấy giá trị quan sát phù hợp rất tốt với giá trị kỳ vọng và phương pháp có tính tuyến tính cao trong khoảng nồng độ được đánh giá.



Biểu đồ 2. Mối tương quan giữa giá trị kỳ vọng và giá trị quan sát được của HbF

Biểu đồ 2 diễn giải mối tương quan chặt chẽ giữa giá trị kỳ vọng và giá trị quan sát được của %HbF, phương trình $y=0,99x+0,298$ với $R^2=0,9988$.

3.1.4. Tổng hợp kết quả kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng

Bảng 7. Tổng hợp kết quả kiểm tra xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp.

Nội dung đánh giá	%HbA ₂	%HbF	Kết luận chung
Độ chụm	Đạt	Đạt	Đạt
Độ lệch	Đạt	Đạt	Đạt
Khoảng tuyến tính	Đạt	Đạt	Đạt

Kết quả bảng 7, tất cả các nội dung đánh giá bao gồm: Độ chụm (độ lặp lại, độ tái lập), Độ lệch (độ đúng) và Khoảng tuyến tính thực nghiệm của cả hai thành phần huyết sắc tố đều đáp ứng các tiêu chí chấp nhận đã đề ra. Kết luận: Phương pháp điện di mao quản trên hệ thống MINICAP Flex Piercing đạt giá trị sử dụng và đủ điều kiện triển khai xét nghiệm lâm sàng (đạt).

3.2. Kết quả: Xác nhận khoảng tham chiếu của %HbA₂ và %HbF ở người trưởng thành khỏe mạnh

3.2.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 8. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm	Số lượng/Giá trị	Tỷ lệ (%)
<i>Tổng số đối tượng nghiên cứu</i>	40	100
<i>Nhóm tuổi</i>		
18-29 tuổi	24	60,0
30-39 tuổi	7	17,5
40-49 tuổi	7	17,5
≥50 tuổi	2	5,0
Tuổi trung bình±SD	30,88±10,08	
Tuổi trung vị	27	
Tuổi nhỏ nhất - lớn nhất	18-60	
<i>Giới tính</i>		
Nam	20	50,0
Nữ	20	50,0

Bảng 8 cho thấy, đối tượng nghiên cứu gồm 40 người trưởng thành, tuổi trung bình là 30,88±10,08 tuổi, tuổi trung vị là 27 tuổi, dao động từ 18 đến 60 tuổi, chiếm tỷ lệ cao nhất với 60,0%. Về giới tính, tỷ lệ nam và nữ tương đương nhau, mỗi nhóm gồm 20 người, chiếm 50,0%.

Bảng 9. Kết quả các chỉ số sàng lọc của đối tượng nghiên cứu.

Chỉ số	Chung (n=40)	Nam (n=20)	Nữ (n=20)
HGB (g/l)	141,1±10,8	149,8±6,2	132,4±6,3
MCV (fl)	89,8±2,5	89,4±2,3	90,2±2,7
MCH (pg)	29,8±1,3	29,9±1,5	29,6±1,1
RDW-CV (%)	13,1±0,7	13,4±0,7	12,9±0,7
Ferritin (ng/ml)	95,8±10,2	101,7±10,1	90,0±6,3
Glucose (mmol/l)	5,3±0,6	5,4±0,5	5,3±0,6
HbA ₂ (%)	2,73±0,26	2,66±0,23	2,80±0,26
HbF (%)	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện

Số liệu khảo sát các chỉ số cơ bản của đối tượng nghiên cứu ở bảng 9 cho thấy, quần thể mẫu có đặc điểm huyết học và sinh hóa ổn định, nằm trong giới hạn sinh lý bình thường. Cụ thể: Lượng huyết sắc tố trung bình (HGB) đạt 141,1±10,8 g/l; thể tích khối hồng cầu (MCV) đạt 89,8±2,5 fl; lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) đạt 29,8±1,3 pg; dải phân bố hồng cầu (RDW-CV) tập trung ở mức 13,1±0,7%. Các chỉ số sinh hóa bao gồm Ferritin dự trữ đạt 95,8±10,2 ng/ml; glucose máu đạt 5,3±0,6 mmol/l. Giá trị HbA₂ ở nữ cao hơn nhẹ so với nam, nhưng khác biệt chưa có ý nghĩa

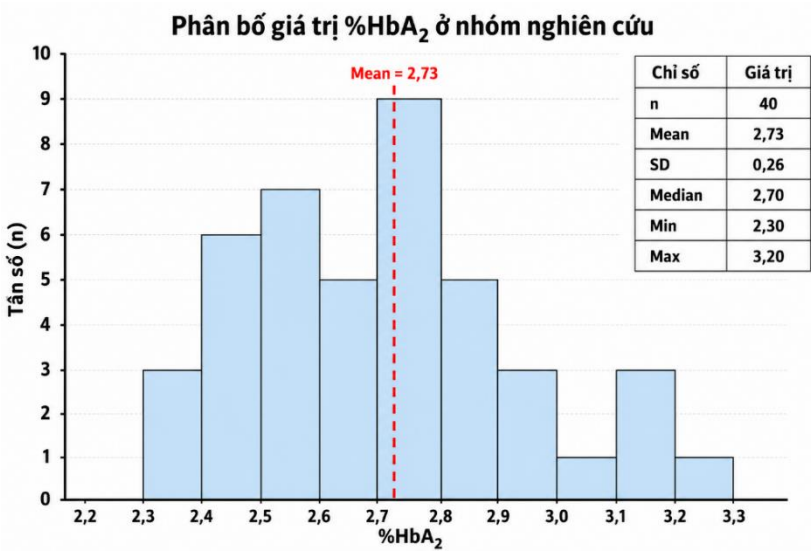
thống kê trong cỡ mẫu nghiên cứu (Mann-Whitney, $p=0,091$); do vậy chưa có cơ sở tách khoảng tham chiếu riêng theo giới.

3.2.2. Kết quả định lượng %HbA₂ và %HbF ở nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 10. Phân bố giá trị %HbA₂ và %HbF ở người trưởng thành khỏe mạnh.

Chỉ số	Trung bình±SD	Trung vị	Min - Max
%HbA ₂	2,73±0,26	2,7	2,30-3,20
%HbF	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện

Kết quả của bảng 10 định lượng thành phần huyết sắc tố cho thấy, ở nhóm đối tượng khỏe mạnh ghi nhận tỷ lệ phân bố tập trung. Trong đó, chỉ số %HbA₂ có giá trị trung bình đạt 2,73±0,26%, giá trị trung vị là 2,7% và dải dao động thực tế nằm trong khoảng từ 2,3 đến 3,2%. Đối với chỉ số %HbF, toàn bộ các giá trị thu được không ghi nhận trường hợp người khỏe mạnh bình thường nào có HbF.



Biểu đồ 3. Phân bố giá trị %HbA₂ ở nhóm nghiên cứu.

Biểu đồ 3 phân bố giá trị %HbA₂ của 40 đối tượng nghiên cứu cho thấy, các giá trị tập trung chủ yếu trong khoảng từ 2,5 đến 3,0%, với giá trị trung bình là 2,73±0,26%, không ghi nhận giá trị ngoại lai rõ rệt và phù hợp với khoảng tham chiếu thường gặp ở người trưởng thành bình thường.

Bảng 11. Kết quả kiểm tra dữ liệu và ước tính khoảng tham chiếu của %HbA₂ và %HbF.

Nội dung đánh giá	%HbA ₂	%HbF
Số lượng mẫu nghiên cứu (n)	40	40
Số ngoại lai	0	Không phát hiện
Trung bình±SD	2,73±0,26	Không phát hiện
Trung vị	2,70	Không phát hiện

Giá trị nhỏ nhất - lớn nhất	2,30-3,20	Không phát hiện
Shapiro-Wilk	0,950	Không tính
p-value	0,076	Không tính
Nhận xét phân phối	Phân phối gần chuẩn	Không tính
Phương pháp ước tính KTC	Trung bình $\pm 1,96$ SD	Giới hạn một phía
KTC ước tính từ dữ liệu nghiên cứu	2,22-3,24%	<0,5%

Kết quả bảng 11 cho thấy, dữ liệu %HbA₂ không ghi nhận giá trị ngoại lai. Kết quả kiểm định Shapiro-Wilk cho %HbA₂ có $W=0,950$ và $p=0,076>0,05$ cho thấy, dữ liệu phân phối gần chuẩn. Do đó, khoảng tham chiếu ước tính của %HbA₂ được xác định theo phương pháp trung bình $\pm 1,96SD$, đạt 2,22-3,24%.

Đối với %HbF, toàn bộ 40 mẫu nghiên cứu không phát hiện được theo ngưỡng báo cáo của hệ thống vì vậy không phù hợp để kiểm định phân phối chuẩn bằng Shapiro-Wilk hoặc xác định khoảng tham chiếu hai phía. Kết quả %HbF được diễn giải theo giới hạn tham chiếu một phía, phù hợp với khoảng tham chiếu dự kiến <0,5 %.

3.2.3. Kết quả xác nhận khoảng tham chiếu của %HbA₂ và %HbF

Bảng 12. Kết quả xác nhận khoảng tham chiếu của %HbA₂ và %HbF.

Chỉ số	KTC dự kiến	n	Số mẫu ngoài KTC dự kiến	Tỷ lệ ngoài KTC (%)	Kết luận
%HbA ₂	2,2-3,2%	40	0	0	Phù hợp
%HbF	<0,5%	40	0	0	Phù hợp

Kết quả bảng 12 cho thấy, toàn bộ 40/40 mẫu (100%) có giá trị %HbA₂ nằm trong khoảng tham chiếu dự kiến 2,2-3,2% và 40/40 mẫu (100%) có giá trị %HbF dưới 0,5%. Không ghi nhận trường hợp nào nằm ngoài khoảng tham chiếu đối với cả hai chỉ số.

4. Bàn luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ thống điện di huyết sắc tố mao quản MINICAP Flex Piercing đáp ứng các tiêu chí xác nhận giá trị sử dụng đối với xét nghiệm HbA₂ và HbF theo các hướng dẫn CLSI EP15-A3 và CLSI EP06. Đối với độ chụm, CV% quan sát được của HbA₂ dao động từ 0,84 đến 2,13%, trong khi HbF dao động từ 0,59 đến 0,62%, đều thấp hơn đáng kể so với giới hạn chấp nhận đã xác định trước. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của I. Agouti và cs (2013) [8] trên hệ Capillarys 2 Flex Piercing khi ghi nhận CV trong lần chạy của HbA₂ dưới 2,13% và CV giữa các lần chạy dưới 2,5%. Tương tự, M. Oyaert và cs (2015) [9] khi đánh giá hệ MINICAP Flex Piercing cũng ghi nhận độ không chụm của HbA₂ và HbF không vượt quá 2,0%. Sự tương đồng này cho thấy kỹ thuật điện di mao quản có độ ổn định cao và duy trì được hiệu năng phân tích tốt trong điều kiện thực hành xét nghiệm thường quy.

Độ đúng của phương pháp cũng đạt yêu cầu khi Bias% của HbA₂ ở mức nội kiểm bình thường và bệnh lý lần lượt là 1,00 và 2,73%, thấp hơn giới hạn chấp nhận 2,9%; đối với HbF, Bias% là 1,48%, thấp hơn nhiều so với giới hạn chấp nhận của vật liệu nội kiểm. Kết quả này cho thấy, sai số hệ thống của phương pháp được kiểm soát tốt, góp phần bảo đảm độ tin cậy của kết quả định lượng. Điều này đặc biệt có ý nghĩa đối với HbA₂ vì đây là chỉ số đóng vai trò trung tâm trong sàng lọc người mang gen β -thalassemia. Ngay cả những sai lệch nhỏ quanh ngưỡng quyết định lâm sàng cũng có thể ảnh hưởng đến việc phân loại đối tượng sàng lọc. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ thống MINICAP Flex Piercing có khả năng duy trì độ đúng phù hợp để phục vụ mục đích này.

Đánh giá khoảng tuyến tính cho thấy, HbA₂ có phương trình hồi quy với $R^2=0,9983$ trong khoảng 2,80-6,55%, trong khi HbF có phương trình với $R^2=0,9988$ trong khoảng 0,00-26,35%. Sai khác lớn nhất tại các mức pha loãng lần lượt là 2,50% đối với HbA₂ và 6,26% đối với HbF, đều thấp hơn ngưỡng sai số lâm sàng cho phép. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của I. Agouti và cs (2013) [8] khi ghi nhận hệ thống điện di mao quản có tính tuyến tính tốt đối với HbA₂ và HbF trong các khoảng nồng độ có ý nghĩa lâm sàng. Đồng thời, hệ số xác định đều lớn hơn 0,998 cho thấy tín hiệu đo phản ánh chính xác sự thay đổi nồng độ thực tế của mẫu, đáp ứng yêu cầu sử dụng trong sàng lọc và theo dõi các bệnh lý huyết sắc tố.

Đối với khoảng tham chiếu, giá trị HbA₂ ở nhóm người trưởng thành khỏe mạnh có phân bố tương đối tập trung với giá trị trung bình $2,73\pm 0,26\%$, dao động từ 2,30 đến 3,20%. Toàn bộ đối tượng nghiên cứu có kết quả HbF dưới giới hạn báo cáo/giới hạn định lượng của hệ thống. Kết quả này phù hợp với đặc điểm sinh học của HbA₂ và HbF ở người trưởng thành đã được mô tả trong y văn. Kết quả kiểm định Shapiro-Wilk đối với HbA₂ cho giá trị $W=0,950$, $p=0,076>0,05$, chứng tỏ dữ liệu có phân phối gần chuẩn. Vì vậy, việc ước tính khoảng tham chiếu của HbA₂ theo phương pháp trung bình $\pm 1,96SD$ là phù hợp về mặt thống kê. Khoảng tham chiếu ước tính từ dữ liệu nghiên cứu là 2,22-3,24%. Giới hạn dưới và giới hạn trên của khoảng ước tính cao hơn nhẹ so với giới hạn của khoảng tham chiếu dự kiến 2,2-3,2% tuy nhiên toàn bộ giá trị quan sát thực tế của 40 đối tượng đều nằm trong khoảng 2,2-3,2%. Do đó, kết quả này không đặt ra yêu cầu thay đổi khoảng tham chiếu đang áp dụng, dữ liệu nghiên cứu ủng hộ việc sử dụng khoảng tham chiếu HbA₂ 2,2-3,2% trong điều kiện phòng xét nghiệm hiện tại. Đối với chỉ số HbF, không phát hiện được theo ngưỡng báo cáo của hệ thống ở toàn bộ đối tượng nghiên cứu. Đặc điểm này phù hợp với sinh lý người trưởng thành, khi HbF thường tồn tại ở mức rất thấp hoặc không phát hiện được bằng phương pháp định lượng thường quy. Do toàn bộ kết quả dưới ngưỡng phát hiện, dữ liệu HbF không phù hợp để kiểm định phân phối chuẩn hoặc xác định khoảng tham chiếu hai phía bằng phương pháp trung bình $\pm 1,96SD$ hay bách phân vị. Vì vậy, việc diễn giải HbF theo giới hạn tham chiếu một phía, cụ thể là $<0,5\%$, là phù hợp hơn với bản chất sinh học và thực hành xét nghiệm.

So với nghiên cứu của A. Mosca và cs (2013) [10], giá trị HbA₂ trung bình trong nghiên cứu thấp hơn nhẹ so với mức 2,9% được báo cáo tại quần thể tham chiếu của tác giả nhưng vẫn nằm trong cùng khoảng phân bố sinh lý. Sự khác biệt này có thể liên quan đến đặc điểm dân số nghiên cứu, yếu tố di truyền, tình trạng dinh dưỡng và sự khác nhau giữa các hệ thống xét nghiệm. Theo P.S. Horn và cs (2003) [11], khoảng tham chiếu của các xét nghiệm sinh học có thể chịu ảnh hưởng bởi tuổi, giới, chủng tộc và đặc điểm quần thể, do đó việc xác nhận trên chính quần thể sử dụng là cần thiết trước khi áp dụng thường quy.

Kết quả xác nhận khoảng tham chiếu cho thấy, toàn bộ mẫu nghiên cứu đều nằm trong khoảng tham chiếu dự kiến đối với HbA₂ và HbF, không ghi nhận trường hợp nào ngoài khoảng. Theo tiêu chí chấp nhận được xây dựng trên cơ sở hướng dẫn CLSI EP28-A3c, kết quả này ủng hộ việc tiếp tục sử dụng khoảng tham chiếu hiện hành trong điều kiện phòng xét nghiệm tại thời điểm nghiên cứu. Tuy nhiên, do cỡ mẫu tham chiếu còn hạn chế và được lựa chọn theo phương pháp thuận tiện có sàng lọc, phòng xét nghiệm cần tiếp tục theo dõi, tích lũy và đánh giá bổ sung dữ liệu nội bộ khi mở rộng số lượng cá thể tham chiếu. Trong bối cảnh Tuyên Quang là tỉnh thuộc khu vực có tỷ lệ mang gen bệnh huyết sắc tố tương đối cao, việc bảo đảm độ tin cậy của xét nghiệm HbA₂ và HbF có ý nghĩa thực tiễn quan trọng đối với hoạt động sàng lọc, phát hiện người mang gen và hỗ trợ chẩn đoán β -thalassemia.

Nghiên cứu được thực hiện trên một hệ thống xét nghiệm tại một đơn vị với số lượng mẫu xác nhận khoảng tham chiếu còn hạn chế và chưa đánh giá ảnh hưởng của nhiều lô hóa chất khác nhau. Tuy nhiên, các kết quả thu được đã cung cấp dữ liệu ban đầu về hiệu năng phân tích của hệ thống MINICAP Flex Piercing trong điều kiện thực tế tại bệnh viện tuyến tỉnh, làm cơ sở cho việc triển khai xét nghiệm thường quy và các nghiên cứu mở rộng trong tương lai.

5. Kết luận

Hệ thống điện di huyết sắc tố mao quản MINICAP Flex Piercing đạt yêu cầu xác nhận giá trị sử dụng đối với xét nghiệm HbA₂ và HbF. Độ lặp lại của HbA₂ có CV% từ 0,84 đến 2,13%, HbF là 0,62%; độ tái lập của HbA₂ từ 1,56 đến 1,65%, HbF là 0,59%. Độ chệch của HbA₂ lần lượt là 1,00 và 2,73%, HbF là 1,48%, đều nằm trong giới hạn chấp nhận. Khoảng tuyến tính được xác nhận trong dải 2,80-6,55% đối với HbA₂ ($R^2=0,9983$; sai khác lớn nhất 2,50%) và 0,00-26,35% đối với HbF ($R^2=0,9988$; sai khác lớn nhất 6,26%).

Ở 40 người trưởng thành khỏe mạnh, giá trị HbA₂ trung bình là $2,73 \pm 0,26\%$, dao động từ 2,30 đến 3,20%; HbF không phát hiện được theo ngưỡng báo cáo của hệ thống ở toàn bộ đối tượng nghiên cứu. Có 100% mẫu nằm trong khoảng tham chiếu dự kiến đối với cả HbA₂ và HbF, đáp ứng tiêu chí xác nhận khoảng tham chiếu theo CLSI EP28-A3c.

Kết quả nghiên cứu cung cấp bằng chứng ban đầu cho thấy, hệ thống MINICAP Flex Piercing đáp ứng các tiêu chí xác nhận đã xác định trước đối với xét nghiệm HbA₂ và HbF tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Tuyên Quang, qua đó hỗ trợ việc sử dụng xét nghiệm trong sàng lọc và định hướng chẩn đoán β -thalassemia tại đơn vị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.R. Higgs, J.D. Engel, G. Stamatoyannopoulos (2012), “Thalassaemia”, *Lancet*, **379**(9813), pp.373-383, DOI:10.1016/S0140-6736(11)60283-3.
- [2] B.Q. Khanh, N.T.T. Ha, N.M. Quan, et al. (2021), “Survey on the prevalence of Thalassemia and hemoglobinopathy carriers among six ethnic minority groups in Northeastern Vietnam”, *Vietnam Medical Journal*, **502**(1), pp.34-42 (in Vietnamese).
- [3] N.H. Dao, L.D. Tai, L.D. Bich, et al. (2021), “Some preliminary results of the Thalassemia control model in Chiem Hoa District, Tuyen Quang Province”, *Vietnam Medical Journal*, **502**(1), pp.25-33 (in Vietnamese).
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute (2014), *EP15-A3: User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline - Third Edition*. Wayne, PA: CLSI.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute (2020), *EP06: Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. Wayne, PA: CLSI.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute (2010), *EP28-A3c: Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition*. Wayne, PA: CLSI.
- [7] Sebia (2020), *MINICAP HEMOGLOBIN(E) Using The MINICAP FLEX-PIERCING Instrument, Ref. 2207: Instructions for Use*. Lisses/L'Aigle, France: Sebia.
- [8] I. Agouti, F. Merono, N. Bonello-Palot, et al. (2013), “Analytical evaluation of the Capillarys 2 Flex piercing for routine haemoglobinopathies diagnosis”, *Int. J. Lab. Hematol.*, **35**(2), pp.217-221, DOI: 10.1111/ijlh.12000.
- [9] M. Oyaert, C. van Laer, H. Claerhout, et al. (2015), “Evaluation of the Sebia minicap flex piercing capillary electrophoresis for hemoglobinopathy testing”, *Int. J. Lab. Hematol.*, **37**(3), pp.420-425, DOI: 10.1111/ijlh.123205.
- [10] A. Mosca, R. Paleari, B. Wild (2013), “Analytical goals for the determination of HbA₂”, *Clin. Chem. Lab. Med.*, **51**(5), pp.937-941, DOI: 10.1515/cclm-2012-0575.
- [11] P.S. Horn, A.J. Pesce (2003), “Reference intervals: An update”, *Clin. Chim. Acta*, **334**(1-2), pp.5-23, DOI: 10.1016/S0009-8981(03)00133-5.