

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tay Chân Miệng (TCM) là bệnh truyền nhiễm lây từ người sang người, dễ gây thành dịch do các vi rút đường ruột (enterovirus) gây ra. Bệnh thường gặp ở trẻ nhỏ dưới 5 tuổi, lây chủ yếu theo đường tiêu hóa, trực tiếp miệng - miệng hoặc phân - miệng. Từ những năm 90 của thế kỷ XX, nhiều vụ dịch TCM đã được thông báo bùng phát thường xuyên tại một số nước Châu Á Thái bình dương với các biến chứng nguy hiểm như viêm não - màng não, viêm cơ tim, phù phổi cấp, thậm chí đã có nhiều trường hợp tử vong. Năm 2008, tại Đài Loan xảy ra một vụ dịch với 347 trường hợp nặng có biến chứng và 14 trường hợp tử vong. Năm 2009, Trung Quốc ghi nhận 1.155.525 ca mắc TCM trong đó 13.810 ca nặng và 353 ca tử vong.

Cho đến nay, bệnh vẫn chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, do đó xu hướng chung của thế giới là phát triển vắc xin phòng bệnh, và phát hiện sớm, điều trị kịp thời để làm giảm tỷ lệ tử vong. Tại Việt Nam, dịch TCM vẫn thường xảy ra, có thể rải rác, có thể thành dịch lan rộng. Vụ dịch TCM trong năm 2011 có 113 121 ca mắc và 170 ca tử vong. Đã có một số nghiên cứu về dịch tễ học, lâm sàng, cận lâm sàng bệnh TCM. Tuy nhiên, các nghiên cứu đã được báo cáo tại Việt Nam chỉ được thực hiện tại một vài tỉnh, thành và trong một thời gian ngắn, do đó chưa có tính đại diện cho cả nước. Hơn nữa, các kết quả nghiên cứu mới ở mức độ phát hiện bệnh, chưa đi sâu phân tích các yếu tố tiên lượng bệnh cũng như đặc điểm gây bệnh của các chủng vi rút, điều đó dẫn đến những hạn chế trong việc phòng chống dịch tại Việt Nam. Để có một bức tranh toàn diện về bệnh TCM, về các căn nguyên gây bệnh đang phổ biến tại Việt Nam cũng như để có một đánh giá đầy đủ về mặt lâm sàng, các biến chứng thường gặp nhằm góp phần cho công tác phòng bệnh và tìm ra các giải pháp không chế tử vong của bệnh TCM, chúng tôi tiến hành đề tài ***“Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và căn nguyên vi rút gây bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam”***.

Đề tài có 3 mục tiêu chính:

1. *Đánh giá đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam.*
2. *Xác định các căn nguyên vi rút chính gây bệnh Tay Chân Miệng.*
3. *Phân tích các yếu tố nguy cơ liên quan đến tình trạng nặng và biến chứng của bệnh.*

Số liệu trong luận án là một phần số liệu trong đề tài nghiên cứu cấp Nhà nước do Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới trung ương là cơ quan chủ trì đề tài, có tên: ***“Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học, lâm sàng, phương pháp chẩn đoán, điều trị, dự phòng bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam”*** và đã được sự cho phép của Chủ nhiệm đề tài và cơ quan chủ trì đề tài.

2. NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI VỀ MẶT KHOA HỌC

- Đây là nghiên cứu đầu tiên về Tay Chân Miệng được tiến hành đồng thời tại các bệnh viện lớn trong cả nước, cung cấp bức tranh toàn diện về lâm sàng, cận lâm sàng và căn nguyên vi rút gây bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam.

- Nghiên cứu đã xác định 2 nhóm căn nguyên vi rút chính gây bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam, gồm nhóm EV71, trong đó dưới nhóm C4 chiếm ưu thế, và nhóm Cocksackievirus trong đó dưới nhóm CA6 chiếm ưu thế. Đồng thời, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy vai trò gây bệnh của EV71 trong giai đoạn hiện nay.

3. GIÁ TRỊ THỰC TIỄN CỦA ĐỀ TÀI.

- Nghiên cứu đã phân tích và xác định các yếu tố tiên lượng bệnh Tay Chân Miệng, giúp các thầy thuốc lâm sàng theo dõi bệnh nhi và áp dụng kịp thời các biện pháp can thiệp để làm giảm tỷ lệ tử vong.

- Nghiên cứu đã xác định được dưới nhóm C4 của EV71 là tác nhân chính gây bệnh Tay Chân Miệng, đồng thời là tác nhân gây bệnh nặng và biến chứng, có thể được đề xuất làm chủng sản xuất vắc xin phòng bệnh Tay Chân Miệng.

4. CẤU TRÚC LUẬN ÁN

Luận án gồm 131 trang, đặt vấn đề (2 trang), tổng quan (40 trang), đối tượng và phương pháp nghiên cứu (20 trang), kết quả nghiên cứu (36 trang), bàn luận (30 trang), kết luận (2 trang), kiến nghị (1 trang), 42 bảng, 21 biểu đồ, 10 hình, 120 tài liệu tham khảo.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Tình hình bệnh Tay Chân Miệng

Bệnh được mô tả lần đầu tại Toronto-Canada năm 1957. Đến năm 1959, trong vụ dịch tại Birmingham-Anh, bệnh đã được đặt tên Tay Chân Miệng. Cùng với Coxsackie A16, EV71 là căn nguyên chính gây bệnh TCM. Bắt đầu từ cuối những năm 1990, các vụ dịch TCM đã lan rộng ở khu vực châu Á - Thái Bình Dương như Trung Quốc, Singapore, Đài Loan, Malaysia với một tỷ lệ lớn có biến chứng thần kinh, tim mạch và hô hấp.

Tại Việt Nam, bệnh Tay Chân Miệng xảy ra rải rác quanh năm ở hầu hết các địa phương nhưng phần lớn tại các tỉnh phía Nam. Một vụ dịch lớn đã xảy ra vào năm 2011 với 113121 trường hợp mắc và 170 ca tử vong.

1.2. Tác nhân gây bệnh Tay Chân Miệng

Tác nhân gây bệnh Tay Chân Miệng là các vi rút đường ruột (enterovirus, EV).

Enterovirus là 1 trong số 7 chi thuộc họ *Picornaviridae*, bộ *Picornavirales*. Đây là một nhóm lớn gồm các vi rút ARN chuỗi đơn dương. Hạt vi rút có hình khối cầu (20 mặt đối xứng), đường kính 30nm. Không có vỏ bao. Vỏ capsid gồm 60 đơn vị (protomers) hợp thành, mỗi đơn vị cấu trúc bởi 4 polypeptid VP1, VP2, VP3, VP4. Cấu trúc bộ gen của vi rút đường ruột gồm một chuỗi đơn dương ARN, mạch thẳng, không phân đoạn, dài khoảng 7,4 kb. Có protein VPg gắn ở đầu 5' thay vì cấu trúc nucleotide được methyl hóa. Vùng không dịch mã (UTR) ở đầu 5' chứa vị trí gắn của ribosom

type I (IRES). Vùng P1 mã hóa cho các polypeptides cấu trúc. Vùng P2 và P3 mã hóa cho các protein không cấu trúc liên quan đến quá trình nhân lên của vi rút. Có đuôi polyA gắn ở đầu 3'. Vùng 3' không dịch mã có vai trò quan trọng trong việc tổng hợp sợi âm ARN.

Vì không có lớp lipid của vỏ bao nên vi rút bền với các điều kiện môi trường của vật chủ, như môi trường acid dạ dày người. Chúng có thể sống được ở nhiệt độ phòng trong vài ngày. Vi rút đường ruột đề kháng với các dung môi hòa tan lipid (như ether và chloroform), cồn, đóng băng, nhưng có thể bị bất hoạt ở nhiệt độ trên 56⁰C, clo hóa, formaldehyde và tia cực tím..

Không phải tất cả các enterovirus đều gây bệnh TCM. Tác nhân gây bệnh TCM thường gặp nhất là EV71, Coxsackievirus, các Echovirus và một số vi rút đường ruột khác. EV71 có 4 nhóm gen là nhóm A, B, C và D. Nhóm A và D bao gồm 1 thành viên. Thành viên duy nhất của nhóm A là chủng BrCr. Nhóm B được chia làm 6 dưới nhóm (subgenotype): B1-5 và B0. Nhóm C cũng được chia thành 5 dưới nhóm (subgenotype): C1-5.

Coxsackievirus được chia thành 2 nhóm A và B. Nhóm A có 24 dưới nhóm có thể gây bệnh lý ở người trong đó CA16 là một trong những căn nguyên quan trọng gây bệnh TCM. Ngoài ra, một số dưới nhóm khác như A5, A6, A7, A9, A10 cũng gây bệnh này. Coxsackie nhóm B có 6 dưới nhóm trong đó B1, B2, B3, B5 cũng là nguyên nhân gây bệnh TCM.

Đường lây và cơ chế gây bệnh:

- Bệnh xảy ra ở mọi lứa tuổi, nhưng thường là trẻ em. Người là nguồn lây duy nhất. Đường lây truyền trực tiếp từ người sang người. Bệnh lây truyền chủ yếu theo đường phân miệng và có thể lây do tiếp xúc trực tiếp với dịch tiết từ mũi, hắt, họng, nước bọt, dịch tiết từ các nốt phỏng của người bệnh hoặc tiếp xúc gián tiếp với các chất tiết của bệnh nhân trên đồ chơi, bàn ghế, dụng cụ sinh hoạt, nền nhà... Bệnh TCM xảy ra rải rác quanh năm nhưng thường

mắc cao hơn vào mùa hè và mùa thu. Bệnh xuất hiện nhiều ở các nước có điều kiện vệ sinh kém.

1.3. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, chẩn đoán và điều trị bệnh Tay Chân Miệng

1.3.1. Triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng lâm sàng điển hình gồm: sốt nhẹ, phát ban ở các vị trí đặc hiệu (xung quanh miệng, lòng bàn tay, lòng bàn chân, mông, gối), loét họng, rối loạn tiêu hóa (nôn, tiêu chảy).

Phần lớn trẻ diễn biến lành tính, tự khỏi trong vòng 7-10 ngày nếu không có biến chứng.

1.3.2. Biến chứng

- Biến chứng thần kinh: viêm não, viêm thân não, viêm não tủy, viêm màng não. Biểu hiện thường gặp như giật mình chới với, run chi, loạng choạng, rung giật nhãn cầu, co giật, hôn mê.

- Biến chứng tim mạch: viêm cơ tim, suy tim. Biểu hiện thường gặp gồm mạch nhanh, giai đoạn đầu có thể tăng huyết áp, sau tụt HA dẫn tới sốc, trụy mạch.

- Biến chứng hô hấp: viêm phổi, phù phổi cấp. Biểu hiện thường gặp gồm thở nhanh, khó thở, tiến triển dẫn tới suy hô hấp.

1.3.3. Cận lâm sàng

1.3.3.1. Sinh hóa và huyết học

Bạch cầu bình thường hoặc có thể tăng, máu lắng tăng. Protein C phản ứng (CRP) trong giới hạn bình thường hoặc tăng nhẹ. Máu lắng thường tăng. Dịch não tủy (DNT) biến loạn khi có biến chứng thần kinh (tăng BC đơn nhân, protein tăng nhẹ).

1.3.3.2. Chẩn đoán hình ảnh.

Chụp CT sọ não, MRI sọ não giúp định khu tổn thương tại não. Siêu âm tim, điện tâm đồ, Troponin I được đề xuất để phát hiện biến chứng viêm cơ tim hoặc sốc. Chụp phổi khi nghi ngờ có tổn thương hô hấp. Trên phim có thể thấy viêm phổi kẽ hoặc lan tỏa hoặc mờ hình cánh bướm trong trường hợp phù phổi cấp.

1.3.3.3. Chẩn đoán trực tiếp

- Kỹ thuật khuếch đại chuỗi gen PCR (Polymerase chain reaction), RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) được áp dụng nhiều nhất vì độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

- Kỹ thuật giải trình tự gen: cho phép xác định các nhóm gen và dưới nhóm gen.

- Kỹ thuật nuôi cấy vi rút đòi hỏi thời gian và kỹ thuật cao. Sau khi nuôi cấy tiến hành kỹ thuật xác định EV71 gồm khẳng định typ huyết thanh bằng phản ứng trung hòa có sử dụng kháng huyết thanh đặc hiệu của từng típ.

- Kỹ thuật phát hiện kháng thể IgM kháng EV71 đang được phát triển, nhưng có thể cho kết quả dương tính giả và giá trị dự báo dương tính thấp.

- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp sử dụng kháng thể đơn dòng kháng EV71 cho kết quả nhanh nhưng giá thành cao.

1.3.4. Chẩn đoán xác định

- Yếu tố dịch tễ: căn cứ vào tuổi, mùa, vùng lưu hành bệnh, số trẻ mắc bệnh trong cùng một thời gian.

- Lâm sàng: phỏng nước điển hình ở miệng, lòng bàn tay, lòng bàn chân, gối, mông, kèm sốt hoặc không.

Chẩn đoán xác định: xét nghiệm RT-PCR hoặc phân lập có virus gây bệnh.

1.3.5. Điều trị và phòng bệnh

Bệnh TCM hiện chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Chủ yếu điều trị triệu chứng, theo dõi sát và xử trí biến chứng.

Phòng bệnh: Hiện chưa có vắc xin đặc hiệu phòng bệnh Tay Chân Miệng. Phòng bệnh chủ yếu giữ vệ sinh, tránh nguồn tiếp xúc.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Thời gian thu thập, tuyển chọn bệnh nhân vào nghiên cứu: từ 08/2011 đến 12/2012.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu: chúng tôi thu nhận bệnh nhân từ 5 bệnh viện lớn, đại diện cho cả nước:

- Miền Bắc:
 - + Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương,
 - + Bệnh viện Nhi Trung ương.
- Miền Nam:
 - + Bệnh viện Nhi đồng 1
 - + Bệnh viện Nhi đồng 2
 - + Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

2.2.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân vào nghiên cứu

Gồm tất cả bệnh nhân, không phân biệt tuổi và giới tính, có đủ 3 tiêu chuẩn sau:

a/ Được chẩn đoán xác định bệnh Tay Chân Miệng theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) và Bộ Y tế Việt Nam (2011), gồm :

- Lâm sàng: bệnh nhân đang sống trong vùng dịch tễ và có một hoặc nhiều các biểu hiện của nhiễm vi rút TCM: sốt, ban ở vị trí đặc hiệu, loét miệng.

- Xét nghiệm: bệnh nhân có kết quả xét nghiệm RT-PCR dịch họng xác định được sự có mặt của vi rút đường ruột gây bệnh TCM.

b/ Bệnh nhân được nhận vào điều trị nội trú và theo dõi tại bệnh viện cho đến khi bệnh ổn định.

c/ Cha, mẹ bệnh nhân hoặc người bảo hộ hợp pháp đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân có bằng chứng nhiễm các vi khuẩn và vi rút cấp tính khác, tại thời điểm nhập viện.
- Bệnh nhân nhiễm, hoặc phơi nhiễm HIV.
- Bệnh nhân không được theo dõi và điều trị tại bệnh viện đủ thời gian cho đến khi bệnh ổn định.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang có phân tích.

2.3.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

a. Cỡ mẫu

- Cỡ mẫu được ước tính theo công thức tính mẫu điều tra cắt ngang:

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

Trong đó:

n: số cá thể

p: tỷ lệ xét nghiệm enterovirus dương tính. Theo một số báo cáo tại Việt Nam tỷ lệ dương tính với enterovirus trên các mẫu bệnh phẩm họng khoảng trên 50%, do đó chúng tôi lấy $p = 0,5$.

Z: 1,96 với $\alpha = 0,05$.

d: độ chính xác tuyệt đối.

Sử dụng phần mềm tính cỡ mẫu phiên bản 2.00 của WHO để tính cỡ mẫu, chọn $d = 0.05$ và $1 - \alpha = 95$, ta có n tối thiểu = **385**.

b. Cách chọn mẫu

Chọn mẫu toàn bộ. Tất cả những bệnh nhân được nghi ngờ nhiễm vi rút TCM sẽ được chọn vào để sàng lọc ca bệnh và lấy mẫu bệnh phẩm dịch họng.

Các mẫu bệnh phẩm sau khi lấy sẽ được bảo quản ở từng bệnh viện, sau đó được vận chuyển tới Khoa Xét nghiệm của bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương để xác định căn nguyên vi rút.

Chúng tôi chỉ chọn vào phân tích những ca bệnh, có kết quả RT-PCR bệnh phẩm dịch họng, xác định được vi rút đường ruột gây bệnh TCM.

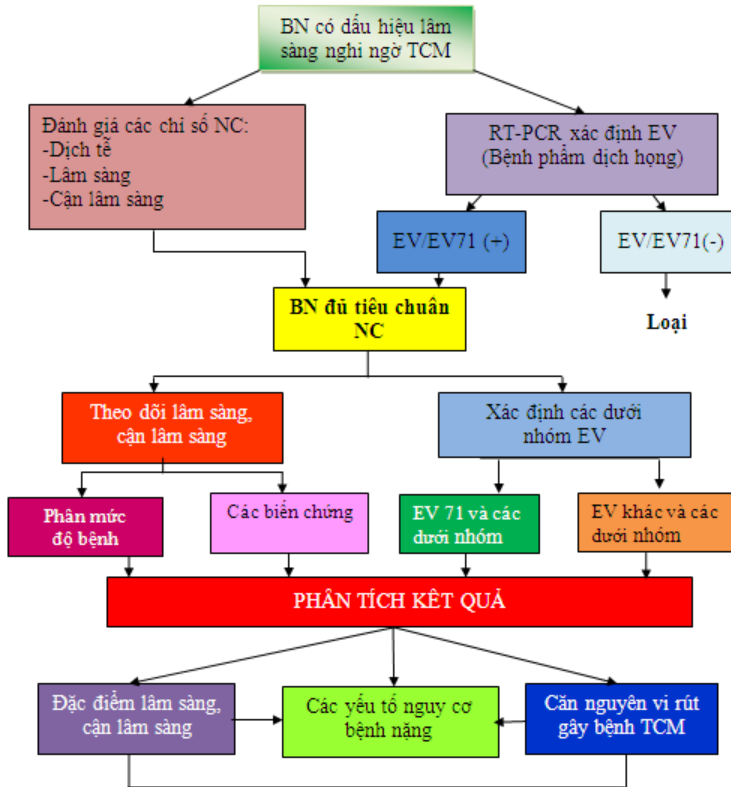
c. Phân độ bệnh nặng và biến chứng của bệnh

- Bệnh nặng: khi bệnh nhân được phân độ lâm sàng từ độ 2B trở lên theo hướng dẫn của Bộ Y tế.

- Biến chứng: bệnh nhân được xác định có biến chứng khi:

- + Có phân độ bệnh từ độ 2B trở lên
- + Có ít nhất một trong các biến chứng: thần kinh, tuần hoàn và hô hấp.

2.3.3. Quy trình nghiên cứu



Hình 2.1. Quy trình nghiên cứu

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này là nội dung chính của đề tài cấp Nhà nước, đã được thông qua “**Hội đồng y đức Bệnh viện bệnh Nhiệt đới Trung ương**” là cơ quan chủ trì đề tài.

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được nhập và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS phiên bản 18.0. Ngưỡng ý nghĩa thống kê $p=0,05$ cho tất cả các phép kiểm định

2.6. Hạn chế của đề tài

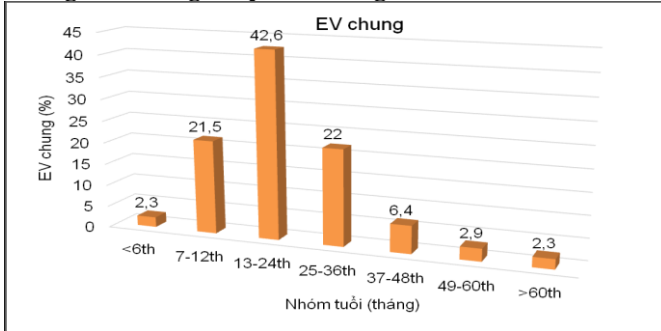
Đề tài giới hạn ở nghiên cứu đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân nhập viện. Số lượng bệnh nhân thu nhận ở các bệnh viện miền Bắc hạn chế so với ở miền Nam nên không thể so sánh bệnh cảnh lâm sàng giữa 2 miền.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1170 bệnh nhân TCM đến từ 50/64 tỉnh thành trong cả nước, đủ tiêu chuẩn đã được chọn vào nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu như sau:

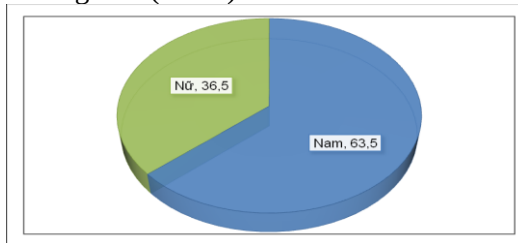
3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng bệnh Tay Chân Miệng.

3.1.1. Thông tin chung về quần thể nghiên cứu



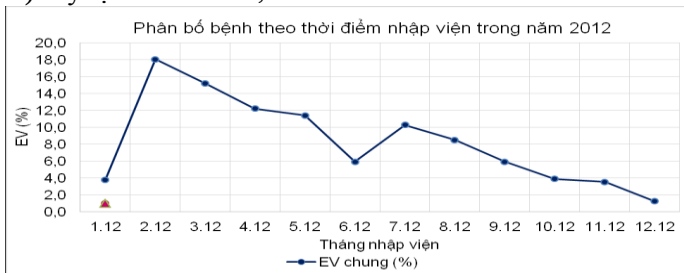
Biểu đồ 3.1. Tỷ lệ bệnh nhân theo các nhóm tuổi

97,7% bệnh nhân dưới 60 tháng tuổi (5 tuổi), trong đó 88,4% là trẻ từ dưới 36 tháng tuổi (3 tuổi).



Biểu đồ 3.2. Tỷ lệ bệnh nhân theo giới tính

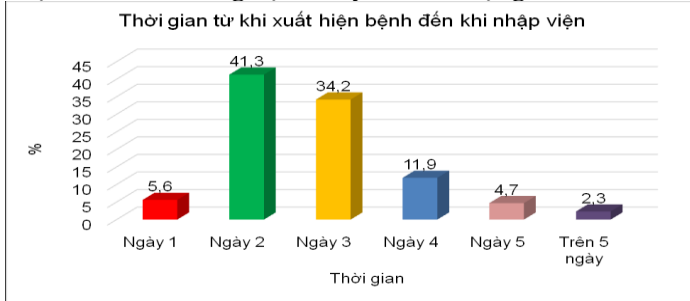
Tỷ lệ trẻ nam mắc TCM chiếm 63,5%, cao hơn hẳn so với trẻ nữ (36,5%). Tỷ lệ nam/nữ là 1,7:1.



Biểu đồ 3.4. Phân bố bệnh theo thời điểm nhập viện trong năm 2012

Trong năm 2012, bệnh nhân TCM nhập viện rải rác trong tất cả các tháng, xu hướng có 2 đỉnh cao từ tháng 2 đến tháng 4 và từ tháng 7 đến tháng 9.

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng bệnh Tay Chân Miệng



Biểu đồ 3.6. Thời gian tính từ khi biểu hiện bệnh đến khi nhập viện

Bệnh nhân TCM nhập viện chủ yếu trong 4 ngày đầu của bệnh (93%).

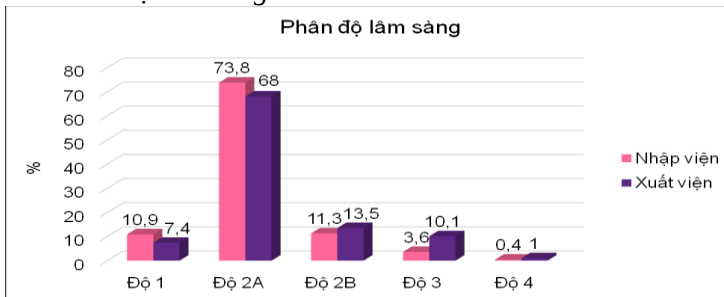
Bảng 3.2. Các triệu chứng lâm sàng thường gặp

Triệu chứng	n = 1170	%
Phát ban	1070	91,5
Loét miệng	865	73,9
Sốt	726	62,1
Giật mình	601	51,4
Nôn	159	13,6
Tiêu chảy	62	5,3

Các biểu hiện lâm sàng thường gặp của bệnh TCM gồm: phát ban (91,5%), loét miệng (73,9%), sốt (62,1%) và giật mình (51,4%).

Các biểu hiện của đường tiêu hóa như nôn, tiêu chảy chỉ gặp với tỷ lệ thấp (13,6% và 5,3%).

3.1.2.4. Phân độ lâm sàng



Biểu đồ 3.7. Phân độ lâm sàng

Bệnh nhân nhập viện gặp cả 4 độ lâm sàng, hầu hết bệnh nhân ở độ 2A (73,8%). Có 15,3% nhập viện trong tình trạng nặng (gồm độ 2B, độ 3 và độ 4).

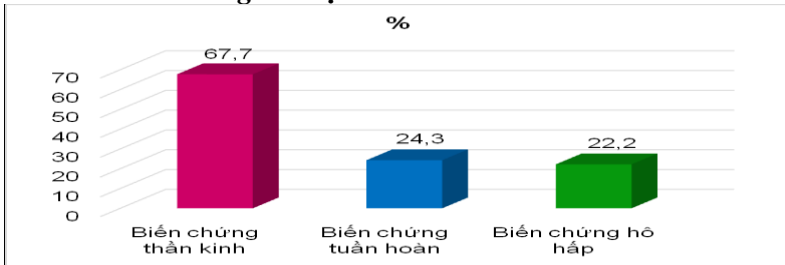
3.1.2.5. Tỷ lệ chuyển độ nặng trong quá trình nằm viện.

Bảng 3.4. Tỷ lệ chuyển độ nặng trong quá trình bệnh nhân nằm viện

Phân độ lúc nhập viện	Tỷ lệ chuyển độ nặng hơn (%)				
	Độ 2A	Độ 2B	Độ 3	Độ 4	Tổng
Độ 1 (n=128)	41,9	1,2	5,8	0	48,9
Độ 2A (n=863)	-	7,1	4,6	0,2	11,9
Độ 2B (n=132)	-	-	25,8	1,5	27,3
Độ 3(n=42)	-	-	-	7,1	7,1

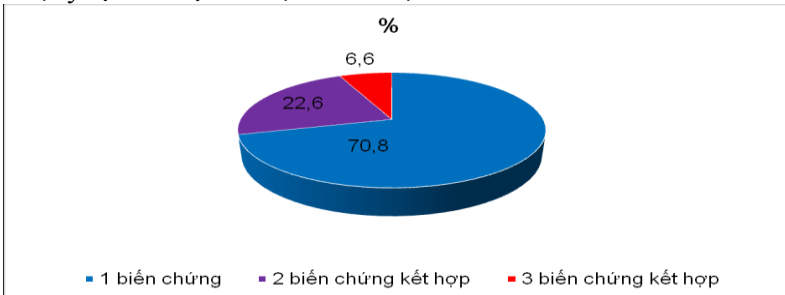
Tỷ lệ chuyển độ nặng hơn trong quá trình nằm viện từ độ 1, 2A, 2B và độ 3 lần lượt là 31,4%, 11,9%, 27,3% và 7,1%.

3.1.3. Các biến chứng của bệnh



Biểu đồ 3.8. Biến chứng các cơ quan (n=288)

Trong số 1170 có 288 bệnh nhân có biến chứng, chiếm 24,6%. Trong số này, biến chứng thần kinh chiếm tỷ lệ cao nhất (67,7%). Biến chứng tuần hoàn và hô hấp ít gặp hơn so với biến chứng thần kinh, tỷ lệ lần lượt là 24,3% và 22,2%.



Biểu đồ 3.9. Tỷ lệ biến chứng đơn thuần và kết hợp

Trong số các bệnh nhân có biến chứng thần kinh, tuần hoàn và hô hấp:

- 70,8% bệnh nhân có 1 biến chứng.
- 22,6% bệnh nhân có kết hợp 2 trong số 3 biến chứng trên.
- 6,6% bệnh nhân có cả 3 biến chứng.

3.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng bệnh Tay Chân Miệng

3.1.4.1. Thay đổi huyết học

Bảng 3.7. Biến đổi số lượng bạch cầu, tiểu cầu và máu lắng

Chỉ số	Giá trị	n	%
Bạch cầu (n=724)	>16 000 tb/mm ³	151	20,9
	10-16000tb/mm ³	358	49,4
	<10000 tb/mm ³	215	29,7
Trung bình: 12613±4492 tb/mm ³ Dao động: 2190- 29 950 tb/mm ³			
Tiểu cầu (n=725)	≤ 400 000 tb/mm ³	592	71,7
	>400 000 tb/mm ³	133	18,3
	Trung bình: 323 646 ± 94 980 tb/mm ³ Dao động: 41 900 - 702000tb/mm ³		
Máu lắng (n=124)	Tăng	117	94,4
	Trung bình: 38,3± 21,4 mm/h Dao động: 2 - 264 mm/h.		

20,9% có BC tăng trên 16 000tb/mm³. 18,3% có số lượng tiểu cầu tăng > 400000tb/mm³. 94,4% có máu lắng tăng.

3.1.4.2. Thay đổi về hóa sinh máu

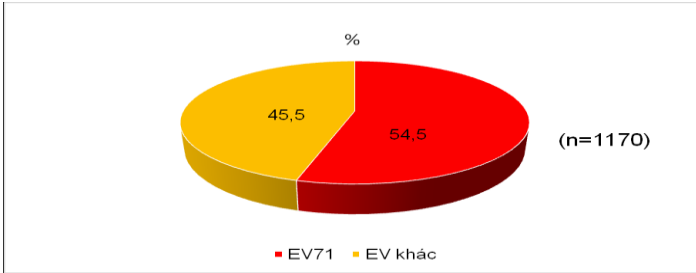
Bảng 3.8. Đặc điểm xét nghiệm hóa sinh máu

Chỉ số	Tăng		Trung bình	Dao động
	n	%		
Glucose (mmol/l) (n=468)	101	21,6	5,6 ± 2,2	2,0 - 27,9
AST (U/L) (n=179)	58	32,4	41,3 ± 28,3	17,5 - 340
ALT (U/L) (n=179)	13	7,3	24,0 ± 30,1	6,1 - 270
CK (U/L) (n=234)	17	7,2	59,5±16	1- 1410
Troponin I (n=26)	Dương tính 2 trường hợp, chiếm 7,7%			

AST tăng (32,4%), glucose máu tăng (21,6%).

3.2. Căn nguyên vi rút gây bệnh Tay Chân Miệng

3.2.1. Kết quả RT-PCR xác định EV71 và EV khác



Biểu đồ 3.12. Kết quả RT-PCR xác định EV71 và các EV khác

1170 mẫu bệnh phẩm dịch họng được xác định EV bằng kỹ thuật RT-PCR. Kết quả: EV71(638/1170) chiếm 54,5%; các EV khác (532/1170) chiếm 45,5%.

3.2.2. Kết quả giải trình tự gen

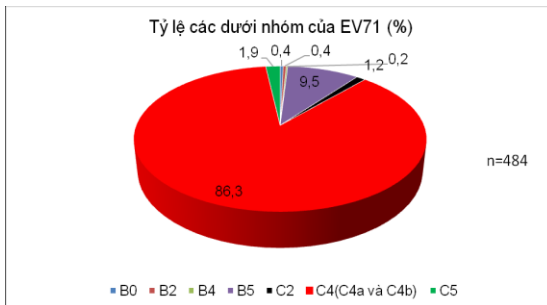
3.2.2.1. Xác định các nhóm vi rút đường ruột gây bệnh Tay Chân Miệng

Bảng 3.12. Tỷ lệ các nhóm vi rút đường ruột

Nhóm EV	n	%
EV 71	484	68,2
Coxsackie vi rút	179	25,2
Echovirus	15	2,1
Các EV khác	32	4,5
Tổng	710	100

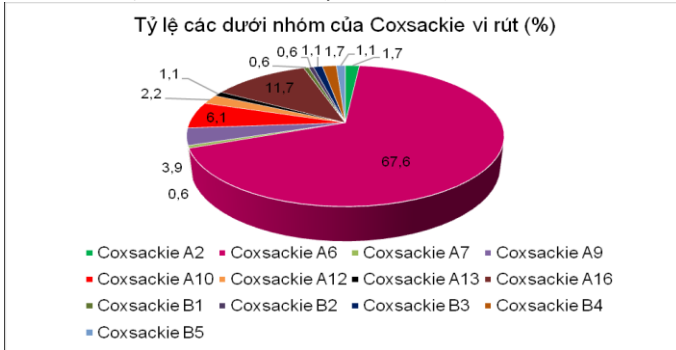
EV71 và Coxsackievirus là 2 căn nguyên thường gặp nhất gây bệnh Tay Chân Miệng.

Ngoài ra nghiên cứu ghi nhận sự có mặt của Echovirus và các enterovirus khác.



Biểu đồ 3.13. Tỷ lệ các dưới nhóm của EV71

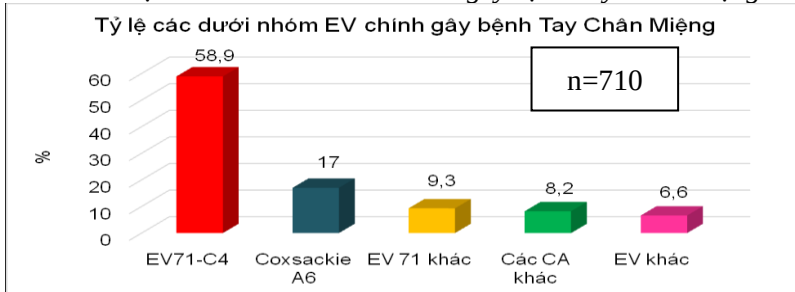
Trong số các trường hợp do EV71, các dưới nhóm A được xác định là C2, C4, C5, trong đó riêng nhóm C4 (gồm cả C4A và C4B) chiếm tỷ lệ cao nhất (86,3%). Nhóm B được xác định gồm các dưới nhóm B0, B2, B4, B5, trong đó nhóm B5 chiếm 9,5% tổng số, các dưới nhóm còn lại chỉ chiếm từ 0,2% đến 1,9%.



Biểu đồ 3.14. Tỷ lệ các dưới nhóm Coxsackievirus

Các Coxsackievirus gây bệnh được xác định gồm các Coxsackie nhóm A (2,6,7,9,10,13,16) và Coxsackie nhóm B (1,2,3,4,5). Trong số này, Coxsackie A6 chiếm ưu thế (67,6%). Coxsackie A16 xếp hàng thứ hai với tỷ lệ 11,7%, tiếp theo là Coxsackie A10 với 6,1%.

3.2.2.2. Xác định các dưới nhóm EV chính gây bệnh Tay Chân Miệng.



Biểu đồ 3.15. Tỷ lệ các dưới nhóm EV chính gây bệnh Tay Chân Miệng

Trong tổng số 710 mẫu bệnh phẩm giải trình tự gen nhóm nghiên cứu đã xác định được các dưới nhóm EV, dưới nhóm C4 của EV71 chiếm 58,9% và Coxsackie A6 chiếm 17% là 2 căn nguyên chính gây bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam.

3.3. Các yếu tố tiên lượng bệnh Tay Chân Miệng.

3.3.1. Liên quan giữa triệu chứng lâm sàng và độ nặng của bệnh.

Kết quả phân tích đa biến mỗi liên quan giữa triệu chứng lâm sàng và bệnh nặng cho thấy, các triệu chứng lâm sàng như giạt mình, không loét miệng và sốt cao trên 38,5°C có mỗi liên quan với bệnh nặng với $p < 0,05$ và OR lần lượt là 4,4 (95% CI 3,2-6,1); 2,2 (95%CI 1,6-3,0) và 2,7 (95% CI 2,1-3,8).

3.3.2. Liên quan giữa biến đổi cận lâm sàng và mức độ bệnh

Kết quả phân tích mỗi liên quan giữa biến đổi huyết học và độ nặng của bệnh cho thấy, bệnh nhân có tiểu cầu trên 400 000 tb/mm³ và bạch cầu trên 16000 tb/mm³ chiếm tỷ lệ cao hơn hẳn ở nhóm bệnh nặng so với nhóm bệnh nhẹ với $p < 0,05$ và OR lần lượt là 2,2 (95%CI 1,5-3,3) và 1,5 (95%CI 1,1-2,2).

Kết quả phân tích mỗi liên quan giữa biến đổi hóa sinh máu và mức độ bệnh cho thấy bệnh nhân có AST tăng và đường huyết tăng chiếm tỷ lệ cao hơn hẳn ở nhóm bệnh nặng so với nhóm bệnh nhẹ với $p < 0,05$ và OR lần lượt là 2,4(95%CI 1,2-4,7) và 2,9 (95%CI 1,8-4,6).

3.3.3. Liên quan giữa mức độ nặng và biến chứng của bệnh với căn nguyên vi rút

Kết quả phân tích mỗi liên quan giữa nhóm do EV71 và các EV khác với mức độ nặng và biến chứng của bệnh cho thấy tỷ lệ bệnh nặng gấp ở nhóm do EV71 cao hơn hẳn so với do EV khác. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và OR=2,2 (95%CI 1,6-2,9)

Nhiễm EV71 có nguy cơ biến chứng thần kinh, hô hấp và tuần hoàn cao hơn hẳn so với nhiễm EV khác ($p < 0,05$) và OR lần lượt là 1,9 (95%CI 1,4-2,6); 2,5 (95%CI 1,4-4,4) và 1,9 (95%CI 1,1-3,2).

Kết quả phân tích mỗi liên quan giữa nhóm B và C của EV71 với mức độ nặng và biến chứng của bệnh cho thấy, tỷ lệ bệnh nặng gấp ở các dưới nhóm C của EV71 cao hơn hẳn so với các dưới nhóm B. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và OR=4,5(95%CI 1,9-8,7). Tỷ lệ bệnh nhân có biến chứng thần kinh ở nhóm C là 25,6%, cao hơn hẳn so với tỷ lệ tương ứng là 2,0% ở dưới nhóm B ($p < 0,05$). Có 7,2% bệnh nhân nhóm C có biến chứng hô hấp, trong khi không có bệnh nhân nhóm B nào có biến chứng này.

Kết quả phân tích mối liên quan giữa dưới nhóm EV71-C4 và CA6 với mức độ nặng và biến chứng của bệnh cho thấy, tỷ lệ bệnh nặng gặp ở các dưới nhóm C4 của EV71 cao hơn hẳn so với các dưới nhóm Coxsackie A6. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và $OR=6,2$ (95%CI 3,2-9,9). Tỷ lệ biến chứng thần kinh, hô hấp và tuần hoàn trong số bệnh nhân nhiễm C4 cao hơn hẳn so với trong nhóm CA6 với $p < 0,05$ và OR lần lượt là 4,4 (95% CI 2,2-9,0) ; 6,8 (95% CI 2,2-9,0) và 5,4 (95% CI 1,3-10,0).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tiên lượng bệnh Tay Chân Miệng

4.1.1. Thông tin chung về quần thể nghiên cứu

4.1.1.1. Phân bố bệnh theo nhóm tuổi

Kết quả từ biểu đồ 3.1 cho thấy, phần lớn các trường hợp nhập viện (97,7%) từ dưới 5 tuổi (60 tháng), trong đó, từ dưới 3 tuổi (36 tháng) chiếm tỷ lệ 88,4%. Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Phan Văn Tú tại miền Nam Việt Nam năm 2005 cũng như những nghiên cứu trước đây tại các nước trong khu vực.

4.1.1.2. Phân bố bệnh theo giới tính

Trong nghiên cứu này, bệnh nhi nam mắc TCM nhập viện chiếm tỷ lệ 63,5%, cao hơn hẳn so với trẻ nữ (36,5%) (biểu đồ 3.2). Tỷ lệ nam/nữ là 1,7:1. Nghiên cứu của Trương Hữu Khanh trong năm 2011 cũng cho kết quả tương tự với 62% là bệnh nhi nam.

4.1.1.4. Phân bố bệnh theo thời điểm nhập viện trong năm

Kết quả cho thấy, các trường hợp nhập viện do bệnh TCM rải rác ở tất cả các tháng trong năm 2012, tỷ lệ nhập viện cao nhất từ tháng 2 đến tháng 4, tiếp theo từ tháng 7 đến tháng 9, giảm dần về cuối năm. Jin-feng Wang và cộng sự nhận thấy có mối liên quan rõ rệt giữa khí hậu và sự xuất hiện bệnh TCM. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Phan Văn Tú là số trường hợp TCM nhập viện đạt đỉnh vào tháng 2 và 3 trong năm.

4.1.2. Đặc điểm lâm sàng

4.1.2.2. Thời gian từ khi xuất hiện bệnh đến khi nhập viện.

Đa số (93%) bệnh nhi nhập viện trong 4 ngày đầu của bệnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy bệnh TCM diễn biến khá cấp tính, do đó cần có giáo dục truyền thông khuyến cáo cha mẹ bệnh nhi theo dõi sát diễn biến của bệnh để đưa trẻ đi khám và nhập viện kịp thời.

4.1.2.3. Các triệu chứng lâm sàng và diễn biến

Các biểu hiện lâm sàng thường gặp của bệnh TCM gồm phát ban ngoài da chiếm tỷ lệ cao nhất (91,5%), tiếp đến là loét miệng (73,9%). Sốt xếp hàng thứ ba với 62,1%. Điều này phù hợp với định nghĩa của Bộ y tế về bệnh TCM, là bệnh nhân TCM có thể có sốt hoặc không. Ngoài ra, các bệnh nhân TCM có thể có biểu hiện triệu chứng ở đường tiêu hóa như nôn chiếm 13,6% và tiêu chảy chiếm 5,3%.

Nghiên cứu diễn biến các triệu chứng lâm sàng, chúng tôi thấy, các triệu chứng bệnh TCM xuất hiện rất sớm. Phần lớn các triệu chứng xuất hiện trong 3 ngày đầu của bệnh, thậm chí trên 50% số bệnh nhân xuất hiện sốt, loét miệng, phát ban trong ngày thứ nhất của bệnh. Đây là những dấu hiệu lâm sàng giúp chẩn đoán bệnh sớm.

- Nghiên cứu ghi nhận, giật mình chiếm 51,4%. Tỷ lệ này thấp hơn nghiên cứu trước đây tại Bệnh viện Nhi đồng 1 (74,5%). Sự khác nhau này có thể do tiêu chí chọn bệnh và địa điểm nghiên cứu khác nhau. Kết quả cũng cho thấy giật mình là dấu hiệu thần kinh xuất hiện sớm nhất trong bệnh TCM và là dấu hiệu lâm sàng quan trọng giúp các thầy thuốc chẩn đoán, theo dõi sát bệnh nhân để kịp thời phát hiện bệnh nặng.

4.1.2.4. Phân độ lâm sàng và tỷ lệ chuyển độ nặng trong quá trình nằm viện.

Kết quả phân độ lâm sàng lúc nhập viện cho thấy, 10,3% bệnh nhân ở độ 1; 73,8% độ 2a; 11,3% độ 2b; 3,6% độ 3 và chỉ có 0,4% độ 4. Tác giả Trương Hữu Khanh khi nghiên cứu trên các bệnh nhân nhập viện tại BV Nhi Đồng 1 năm 2011 cũng cho kết quả tương tự

với các tỷ lệ tương ứng là 17,73,9,1 và 0,4%. Tỷ lệ chuyển độ nặng trong quá trình nằm viện từ độ 1, độ 2a, 2b và 3 của chúng tôi lần lượt là 31,4%, 11,9%, 27,3% và 7,1% cũng tương tự với kết quả của Trương Hữu Khanh. Điều đó cho thấy, cần theo dõi sát bệnh nhân TCM trong quá trình nằm viện để phát hiện sớm dấu hiệu chuyển bệnh nặng và xử trí kịp thời.

4.1.3. Biểu chứng của bệnh

288 trong số 1170 bệnh nhân (chiếm 24,6%) có độ 2b trở lên có biểu hiện các triệu chứng nặng được chúng tôi xếp theo các nhóm biến chứng thần kinh, tuần hoàn và hô hấp. Trong số này, biến chứng thần kinh chiếm ưu thế với 67,7%. Kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với một số tác giả trong nước và khu vực, cho thấy biến chứng thần kinh gặp với tỷ lệ cao nhất trong bệnh TCM. Tiếp theo là biến chứng hô hấp và tuần hoàn chiếm tỷ lệ là 22,2 và 24,3%. Một số tác giả cho rằng trong bệnh TCM tổn thương thần kinh thường ở vùng thân não là trung tâm hô hấp tuần hoàn, do đó biến chứng hô hấp và tuần hoàn thường xảy ra sau biến chứng thần kinh và là hậu quả của tổn thương vùng thân não. Tuy nhiên cơ chế gây bệnh đến nay vẫn chưa rõ ràng. Kết quả còn cho thấy các bệnh nhân có thể có các biến chứng phối hợp thần kinh, tuần hoàn và hô hấp.

4.1.4. Đặc điểm cận lâm sàng

4.1.4.1. Thay đổi huyết học

Nghiên cứu về đặc điểm cận lâm sàng, xét nghiệm công thức máu cho thấy trên 50% bệnh nhân có số lượng bạch cầu (BC) tăng trên 10 000 tb/mm³. Phân tích sự thay đổi BC theo phân độ lâm sàng, chúng tôi thấy tỷ lệ bệnh nhân có BC tăng cao trên 16000tb/mm³ gặp ở độ 2B trở lên cao hơn so với độ 1 và 2A. Tác giả Đoàn thị ngọc điệp và Li cũng nhận xét thấy ở nhóm bệnh nhân TCM biểu hiện bệnh nặng thường có BC tăng cao. Thậm chí Jiahua trong một nghiên cứu năm 2012 cho thấy BC tăng trên 17 000 tb/mm³ là một dấu hiệu tiên lượng nặng. Tương tự như với BC, nghiên cứu cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có tiểu cầu (TC) trên 400000 tb/mm³ gặp ở nhóm độ 2B trở lên cao

hơn độ 1 và độ 2A. Đây sẽ là những chỉ số chúng tôi dùng để phân tích yếu tố tiên lượng bệnh nặng.

4.1.4.2. Thay đổi về hóa sinh máu (bảng 3.8)

Về hóa sinh máu, kết quả nghiên cứu cho thấy glucose máu tăng chiếm 21,6% và AST tăng chiếm 32,4% trong khi chỉ có 7,3% bệnh nhân có ALT tăng. CK tăng chiếm 7,2%. AST có thể tăng trong tổn thương gan và cả trong tổn thương cơ tim. Do đó cần nghiên cứu sâu hơn về cơ chế tăng AST trong bệnh TCM.

4.2. Căn nguyên vi rút gây bệnh Tay Chân Miệng

4.2.1. Kết quả RT-PCR xác định EV71 và các EV khác

Kết quả có 1170 bệnh nhân được xác định EV dương tính bằng kỹ thuật RT-PCR. Trong đó 638 bệnh phẩm dương tính với EV71 (chiếm 54,5%), 532 bệnh phẩm còn lại được xác định là các EV khác (chiếm 45,5%) (biểu đồ 3.12). Kết quả này là khá tương đồng với các nghiên cứu trong khu vực. Điều này cho thấy EV71 là tác nhân gây bệnh phổ biến trong những đợt dịch Tay Chân Miệng. Khi so sánh với số liệu trong nước, chúng tôi thấy các báo cáo về tỷ lệ nhiễm EV71 trong các vụ dịch TCM thường lẻ tẻ, tập trung tại một vùng hoặc khu vực. Có lẽ đây là báo cáo đầu tiên và toàn diện nhất về tỷ lệ nhiễm EV và EV71 trong bệnh TCM tại Việt Nam.

4.2.2. Kết quả giải trình tự gen xác định các dưới nhóm EV gây bệnh Tay Chân Miệng

Kết quả giải trình tự gen cho thấy các nhóm EV chính gây bệnh tại Việt Nam gồm EV71 chiếm ưu thế, tiếp đến là Cocksackievirus, ngoài ra có ECHO vi rút và các EV khác.

Kết quả giải trình tự gen xác định các dưới nhóm EV71 cho thấy dưới nhóm C4 chiếm ưu thế (86,3%), tiếp theo là dưới nhóm B5 chiếm 9,5%. Nghiên cứu của Lê Phan Kim Thoa tại Miền nam Việt Nam trong năm 2011 cũng ghi nhận dưới nhóm C4 chiếm 94% các trường hợp nhiễm EV71.

Kết quả giải trình tự gen cũng đã xác định được các Cocksackievirus A và B là căn nguyên gây bệnh TCM tại Việt Nam. Trong đó, CA6 chiếm ưu thế (67,6%), tiếp theo là CA16 (11,7%). Đây là điểm mới trong nghiên cứu của chúng tôi, vì so với các nghiên cứu trước đó tại Việt Nam thì CA16 là tác nhân chủ yếu gây bệnh TCM. Tuy nhiên, nghiên cứu của Tsuguto trên các bệnh nhân TCM tại Nhật Bản năm 2011 cũng ghi nhận CA6 là tác nhân chủ yếu gây bệnh TCM. Điều đó cho thấy tính đa dạng của vi rút gây bệnh tại các thời điểm khác nhau.

4.3. Các yếu tố tiên lượng bệnh Tay Chân Miệng

4.3.1. Lâm sàng

Kết quả phân tích đa biến cho thấy các triệu chứng lâm sàng có liên quan đến bệnh nặng gồm sốt cao $> 38,5^{\circ}\text{C}$ (OR=2,72), giật mình (OR= 4,4) và không loét miệng (OR=2,2), với $p < 0,05$. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước như Trung Quốc và Malaysia và đã cung cấp thêm chứng cứ khoa học cho hướng dẫn của Bộ Y tế trong đó những trẻ sốt cao $\geq 39^{\circ}\text{C}$ được phân loại độ 2A và được nhập viện theo dõi. Nghiên cứu của Phan Văn Tú (2005) và Trương Thị Triết Ngự (2007) đã ghi nhận những trẻ có loét miệng có nguy cơ nhiễm Cocksackievirus cao hơn EV71 nên bệnh cảnh lâm sàng thường ít nặng hơn. Nghiên cứu cũng cho thấy không phải tất cả bệnh nhân có triệu chứng giật mình lúc đầu đều diễn biến nặng và có biến chứng thần kinh. Hướng dẫn của Bộ Y tế cũng xếp bệnh nhân từ độ 2B trở lên khi có giật mình được phát hiện trong quá trình thăm khám với tần số từ trên 2 lần/30 phút. Từ đó cho thấy, trên lâm sàng không những cần phát hiện triệu chứng giật mình mà còn phải theo dõi sát tần suất xuất hiện triệu chứng này để phát hiện biến chứng thần kinh và xử trí kịp thời.

4.3.2. Cận lâm sàng

Kết quả nghiên cứu mối liên quan giữa các chỉ số huyết học và mức độ bệnh nặng cho thấy BC $> 16000\text{ tb/mm}^3$ và tiểu cầu $> 400\ 000\text{ tb/mm}^3$ là những yếu tố nguy cơ bệnh nặng. Kết quả này phù

hợp với nhiều nghiên cứu khác trong khu vực. Có lẽ số lượng BC và TC tăng trong bệnh TCM có liên quan đến phản ứng viêm. Bệnh nhân càng nặng, phản ứng viêm càng nhiều và BC, TC tăng.

Nghiên cứu mối liên quan giữa các chỉ số sinh hóa và mức độ bệnh nặng cho thấy AST tăng và đường máu tăng là những yếu tố nguy cơ bệnh nặng. Đường huyết tăng trong nhóm bệnh nhân nặng có thể do cơ chế phản ứng viêm gây tăng tiết catecholamin xảy ra do rối loạn thần kinh thực vật. AST không chỉ tăng trong trường hợp tổn thương gan mà còn có thể tăng trong tổn thương cơ tim. Liệu AST tăng có phải là dấu hiệu chỉ điểm tổn thương tim trong bệnh Tay Chân Miệng. Vấn đề này cần được nghiên cứu thêm. Các kết quả trên sẽ giúp cho các thầy thuốc lâm sàng tiên lượng bệnh để xử trí kịp thời và làm giảm tỷ lệ tử vong.

4.3.3. Căn nguyên vi rút

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm bệnh nhân nhiễm EV71 có tỷ lệ bệnh nặng cao hơn, đồng thời tỷ lệ biến chứng thần kinh, tuần hoàn và hô hấp cũng cao hơn so với nhóm bệnh nhân nhiễm EV khác. Wang và cộng sự nghiên cứu tại Shenzhen (Trung Quốc) ghi nhận tất cả các ca bệnh nặng trong năm 2009 đều dương tính với EV71. Kết quả cũng tương tự với vụ dịch TCM năm 2011 tại Việt nam. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy nhóm C của EV71 có tỷ lệ bệnh nặng và biến chứng thần kinh, tuần hoàn cao hơn so với nhóm B. Đây là một điểm mới trong nghiên cứu về TCM vì từ trước tới giờ ở Việt Nam hầu như chưa có báo cáo nào liên quan đến so sánh lâm sàng giữa 2 nhóm B và C của EV71. Dưới nhóm C4 của EV71 có tỷ lệ bệnh nặng và biến chứng thần kinh, tuần hoàn, hô hấp cao hơn so với CA6. Qua đó, chúng tôi cho rằng trong đợt dịch TCM tại thời điểm năm 2012 tại Việt Nam thì dưới nhóm EV71-C4 là căn nguyên chính gây bệnh nặng. Điều này cũng hoàn toàn trùng hợp với nhiều báo cáo gần đây trong và ngoài nước về dịch tễ học bệnh TCM và khả năng gây bệnh của nhóm EV71 trong đó có dưới nhóm C4. Việc phân tích và đánh giá trên đã cung cấp những thông tin quan

trọng về dịch tễ phân tử và lâm sàng, giúp sàng lọc được nhóm vi rút có nguy cơ cao, tạo tiền đề cho các nghiên cứu sản xuất vắc xin sau này.

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh Tay Chân Miệng tại Việt Nam.

- Bệnh xuất hiện quanh năm, cao điểm vào mùa xuân (tháng 2-4) và đầu thu (tháng 7-9), gặp chủ yếu ở trẻ dưới 5 tuổi (97,7%) trong đó trẻ dưới 3 tuổi chiếm 88,4%. Trẻ nam chiếm ưu thế (63,5%). Tỷ lệ nam/nữ là 1,7:1.

- Bệnh nhân thường nhập viện trong 4 ngày đầu của bệnh (93%). Triệu chứng lâm sàng thường gặp: phát ban (91,5%); loét miệng (73,9%); sốt (62,1%); giật mình (51,4%); nôn (13,6%), tiêu chảy (5,3%).

- Tỷ lệ chuyển độ nặng hơn trong quá trình nằm viện từ độ 1, 2A, 2B và độ 3 lần lượt là 31,4%, 11,9%, 27,3% và 7,1%.

- Tỷ lệ gặp biến chứng là 24,6%, gồm biến chứng thần kinh, tuần hoàn và hô hấp. Trong số trẻ có biến chứng:

- + Biến chứng thần kinh thường gặp nhất (67,7%), tiếp theo là biến chứng tuần hoàn (24,3%) và hô hấp (22%).
- + 70,8% trẻ có một biến chứng, 22,8% có kết hợp 2 biến chứng và 6,6% có kết hợp cả 3 biến chứng.

- Kết quả xét nghiệm máu:

- + Huyết học: bạch cầu tăng (20,9% trên 16 000 tb/mm³), máu lắng tăng (94,4%),
- + Sinh hóa máu: AST tăng (32,4%), glucose máu tăng (21,6%).

2. Các căn nguyên vi rút gây bệnh Tay Chân Miệng.

- Kết quả xác định EV bằng kỹ thuật RT-PCR: EV71 chiếm 54,5%, các EV khác chiếm 45,5%.

- Kết quả xác định các nhóm và dưới nhóm EV bằng kỹ thuật giải trình tự gen:

+ Các nhóm EV chính gây bệnh Tay Chân Miệng: EV71(68,2%), Coxsackievirus (25,2%), Echovirus (2,1%) và các EV khác (4,5%).

- EV71 gồm các dưới nhóm C (C4, C2 và C5) và các dưới nhóm B (B0, B2, B4, B5). Trong số này dưới nhóm EV71-C4 chiếm ưu thế (86,3%), dưới nhóm B5 chiếm 9,5%.
- Coxsackie virus gồm các dưới nhóm A và B. Trong số này, Coxsackie A6 chiếm ưu thế (67,6%), Coxsackie A16 (11,7%) và Coxsackie A10 (6,1%).

+ 2 chủng vi rút đường ruột chính gây bệnh Tay Chân Miệng: EV71-C4 (58,9%) và Coxsackie A6 (17%).

3. Các yếu tố tiên lượng bệnh Tay Chân Miệng

Các yếu tố nguy cơ bệnh nặng gồm:

- **Lâm sàng:** sốt cao trên 38,5°C (OR=2,7), giật mình (OR=4,4), không loét miệng (OR=2,2), với $p < 0,05$.
 - **Cận lâm sàng:**
 - + Huyết học: số lượng tiểu cầu trên 400 000/tb/mm³ (OR=2,2), bạch cầu trên 16 000 tb/mm³ (OR=1,5), với $p < 0,05$
 - + Sinh hóa máu: AST tăng (OR=2,4) và đường huyết tăng (OR=2,9), với $p < 0,05$.
 - **Căn nguyên vi rút:** Tỷ lệ bệnh nhân nặng và biến chứng gấp ở:
 - + Nhóm do EV71 cao hơn nhóm do EV khác
 - + Các dưới nhóm C của EV71 cao hơn các dưới nhóm B.
 - + Dưới nhóm EV71- C4 cao hơn dưới nhóm Coxsackie A6.
- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và OR > 1.**

KHUYẾN NGHỊ

1. Bổ sung các yếu tố tiên lượng bệnh nặng trong chẩn đoán và điều trị bệnh Tay Chân Miệng.
2. Lựa chọn chủng EV71-C4 để ứng dụng sản xuất vắc xin phòng bệnh Tay Chân Miệng.

1. INTRODUCTION

Hand Foot and Mouth disease (HFMD) is an infectious disease transmitted from human to human, caused by enterovirus and easily to become epidemic. HFMD is common in children under 5 year old, transmitted mostly by intestinal route, directly mouth-mouth or feces-mouth. Since 1990s, many HFMD outbreaks have been reported in South East Asia Pacific countries with fatal complications such as meningo- encephalitis, myocarditis, pulmonary oedema, even leading to deaths. In 2008, there was a HFMD outbreak in Taiwan with 347 severe and complication cases and 14 deaths. In 2009, 1.1555.525 HFMD cases were reported in China including 13 810 severe cases and 353 deaths.

Until now, there has not been specific treatment, therefore the world tendency is to develop vaccin, early diagnosis and treatment to reduce mortality. In Vietnam, HFMD epidemics often occur, may be sporadic or spread. In HFMD outbreak in 2011, 113 121 cases including 170 deaths were reported. There were some studies on HFMD epidemiology and clinical characteristics in Vietnam. However, these studies were conducted only in a few provinces and in short term, so could not be representative for the whole country. Moreover, their results were limited in diagnosis, not analysed in depth predictive factors as well as clinical features caused by each EV genotypes, that led to limitations in HFMD treatment and prevention in Vietnam. Aiming to provide a overall description on HFMD, on its common causal agents as well clinical features and common complications in order to help to prevent the disease and reduce its mortality, the study ***“To study clinical, subclinical features and causal viruses of Hand Foot and Mouth disease in Vietnam”*** was conducted with 3 objectives:

1. *To evaluate clinical and subclinical features of HFMD in Vietnam*
2. *To identify the main causal viruses of the disease*
3. *To analysis risk factors related to the severity and complications of HFMD.*

The data was from the National study on HFMD led by the National hospital on Infectious and Tropical diseases, named: ***“To study HFMD epidemiology, clinical features, diagnosis, treatment and prevention in Vietnam”*** with the authorization from the study leader.

2. NEW FINDINGS OF THE THESIS

- This was the first thesis on HFMD conducted at the same time in leading hospitals in whole country, so provided a overall description on HFMD clinical, subclinical and causal viruses characteristics in Vietnam.
- The study identified 2 main enteroviruses (EV) causing HFMD, composing EV71 with predominant C4 subgenotype, and Coxsackieviruses with predominant CA6 subgenotype. The result also showed EV71 pathogenic role during this time period.

3. PRACTICAL VALUE OF THE THESIS

- The study identified HFMD predictive factors that help clinicians in following patients and to give intervention in time to reduce the mortality.
- The study identified EV71 subgenotype C4 as the main causal virus. It was also the main cause of severity and complications, therefore could be selected as the candidate for HFMD vaccine development.

4. THE LAY OUT OF THE THESIS

The dissertation consist of 131 pages (excluding appendice), including Introduction (2 pages), Overview (40 pages), Subjects and Study methods (20 pages), Results (36 pages), Discussion (30 pages), Conclusion (2 pages), Recommendations (1 page), 42 tables, 21 charts, 10 photos and 120 references.

CHAPTER 1: OVERVIEW

1.1. Situation of Hand Foot and Mouth disease (HFMD)

The disease was first described in Toronto-Canada in 1957. It was called Hand Foot and Mouth disease during an epidemic in

Birmingham- England in 1959. With Coxsackie A16, EV71 were the main cause of the disease. Since the end of 1990s, HFMD outbreaks occurred in Pacific Asian countries such as China, Singapore, Taiwan, Malaysia with a number of CNS, cardiac and pulmonary complications.

In Vietnam, HFMD occurs sporadically during the year in almost provinces especially in the South. An HFMD outbreak was reported in 2011 with 113121 cases including 170 deaths.

1.2. Etiology

Enterovirus cause HFMD

Enterovirus is 1 among 7 genus belonging to *Picornaviridae* family, *Picornavirales* order, a large group of a single positive-strand genomic RNA. The enteroviruses are icosahedral nonenveloped viruses that are approximately 30 nm in diameter. They have a capsid composed of 60 subunits, each formed from 4 proteins (VP1 to VP4). A linear, single-strand RNA genome of about 7.4 kb is enclosed by the capsid; the translation product is a single polyprotein that is cleaved after translation by viral-coded proteases into the structural proteins (VP1 to VP4), RNA polymerase, proteases, and other nonstructural proteins. There is a VPg protein 5'untranslated region composing ribosom- binding sequence type I (IRES). P1 region encodes structure proteins. P2 and P3 region encode nonstructure proteins relating to virus replication. 5' UTR is followed by 3' UTR and poly A tail. 3' UTR has important role in minus-strand RNA synthesis.

Without lipid envelope, enterovirus are stable at environmental condition like stomach pH. They can exist in the room temperature for some days. Enteroviruses resist to lipid dissolution solven (as ether and chloroform), ethanol but are inactive at temperature of over 56⁰C, clo, formaldehyde and ultra-violet ray..

Not all enteroviruses can cause HFMD. Common causes are EV71, Coxsackievirus, Echoviruses and some other enteroviruses. EV71 includes 4 genogroup A, B, C and D. A and D genogroup have only one subgenotype for each. That of subgroup A is BrCr. Genogroup B is divided into 6 subgenotypes: B1–5 and B0. Genogroup C is divided into 5 subgenotypes: C1-5.

Coxsackieviruses are divided into 2 subgroups A and B. Subgroup A includes 24 subgenotypes causing diseases for human, among that CA16 is one critical cause of HFMD. Other subgenotypes can cause HFMD including CA5, CA6, CA7, CA9 and CA10. Coxsackievirus B subgroup includes 6 subgenotypes among that B1, B2, B3, B5 can also cause HFMD.

Transmission route:

- HFMD occurs in all ages, but commonly in children. Human is the only source. The disease is transmitted directly from human to human predominantly by fecal-oral route, and may be transmitted through respiratory-oral route by direct contact with nasal droplets, saliva and skin vesicles or indirect contact through the patients toys, house items and floor..infected of their discharge. HFMD occurs sporadically in whole year but more frequently in the summer and autumn. The disease is common in poor hygienic countries.

1.3. Clinical, subclinical feature, diagnosis and treatment of Hand Foot and Mouth disease.

1.3.1. Clinical symptoms

Specific symptoms include: not high fever, rash in specific sites (around mouth, palms, soles, buttock and knees), mouth ulcers, bowel disorders (vomiting, diarrhea).

Most patients develop benign and recover spontaneously within 7-10 days if there aren't complications.

1.3.2. Complications

- CNS complication: encephalitis, brain stem encephalitis, meningoencephalitis and meningitis. Common symptoms are frequent myoclonus jerk, tremors, ataxia, nystagmus, seizure and coma.

- Cardiac complication: myocarditis, heart failure. Common symptoms are tachycardia, hypertension followed by hypotension and shock.

- Respiratory complication: pneumonia, OAP. Common symptoms are short breaths, dyspnea, leading to respiratory failure.

1.3.3. Subclinical tests

1.3.3.1. Biochemical and hematological exams

WBC normal or slightly increased. CRP normal or slightly increased. VS often increased. CSF disorder when CNS complication occurs (pleocytes with hypermonocytosis, slightly increased protein).

1.3.3.2. Imaging findings.

Cerebral CT and MRI help to define lesions location in the brain. Cardioechography, ECG and Troponin I should be done to detect myocarditis and cardiac shock. Chest X ray performed when respiratory complication suspected. Common lesions on X ray are interstitial pneumonia or bilateral infiltrate in pulmonary oedema.

1.3.3.3. Etiology diagnosis test

- Techniques PCR (Polymerase chain reaction), RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) are commonly applied as high sensitivity and specificity.

- Sequencing technique: permit to define EV genotypes and subgenotypes.

- Virus isolate by culture: require long time and high technique. Define EV71 serotypes after culture by neutralization test using specific antibody for each serotypes.

- Technique of immunoglobulin IgM detection of EV71 is being developed but may have false positive and not high sensitivity.

- Indirect immunofluorescence assay (IFA) tests using anti-EV71 monoclonal antibodies can provide rapid result, but with high expense.

1.3.4. Diagnosis confirmation

- Epidemiology: based on age, season, epidemic areas, number of infected children at the same time.

- Clinical: specific rash and vesicular on mouth, palm, sole , knee and buttock, with or without fever.
- Confirmatory test: RT-PCR or isolated test for EV is positive.

1.3.5. *Treatmen and prevention*

There is not yet specific treatment for HFMD. Symptom treatment, follow-up to detect and control complications.

Prevention: there is not yet HFMD vaccine. Prevention mostly by hygien keeping and contaminated source avoiding.

CHAPTER 2: STUDY SUBJECTS AND METHODS

2.1. Study period and sites

2.1.1. *Time period for patients inclusion:* from August 2011 to December 2012.

2.1.2. *Study sites:* patients enrolled from 5 leading hospitals representative for the whole country:

- In the North:
 - + National hospital for Tropical diseases
 - + National Pediatric Hospital
- In the South:
 - + Pediatric Hospital 1
 - + Pediatric Hospital 2
 - + HCMC Hospital for Tropical disease.

2.2. Study subjects

2.2.1. *Inclusion criteria*

All patients having enough 3 following criteria:

a/ Be confirmly diagnosed of HFMD according to WHO and MOH guidlines (2011), including:

- Clinical: patients living in epidemic areas and presenting one or more HFMD clinical symptoms: fever, rash on specific sites, mouth ulcers.
- Tests: patients having throat fluid RT-PCR positive with enterovirus.

b/ Patients admitted to hospital and be followed until they are stable.

c/ Patients parents or family members approve of patient participating to the study.

2.2.2. Exclusion criteria

- Patients evidently infected of other infectious disease at the point of enrollment.
- Patients infected or exposed to HIV.
- Patients not followed up at hospital until stable.

2.3. Study methods

2.3.1. Study design: Cross descriptive study with analysis.

2.3.2. Sample size and sample selection

a. Sample size

- Sample size estimated base on calculation formula of cross study:

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

Among that:

n: number of patients

p: prevalence of EV positive test. According some report in Vietnam, prevalence of EV positive test with specimen from throat fluid were over 50%, therefore we took $p = 0,5$.

Z: 1,96 with $\alpha = 0,05$.

d: absolute exactitude.

Using WHO sample size estimation tool version 2.00 , with $d = 0.05$ and $1 - \alpha = 95$, we have the minimum sample size = **385**.

b. Sample selection

Full sample size. All clinical suspected cases were screened for oral swab test. Specimens were stored at each hospital then were transferred to National Hospital for Tropical diseases for RT-PCR test to define causal viruses.

Only clinical cases having oral swab RT-PCR positive test were selected for the study.

c. HFMD severe and complication cases definition

- Severe cases: defined if patients at clinical grade of 2B or more according to MOH guideline (2011)
- Complication cases: defined if patients having following criteria:
 - + Clinical grade of 2B or more .
 - + At least one among neurological, cardiac and pulmonary complications.

2.3.3. Study procedure

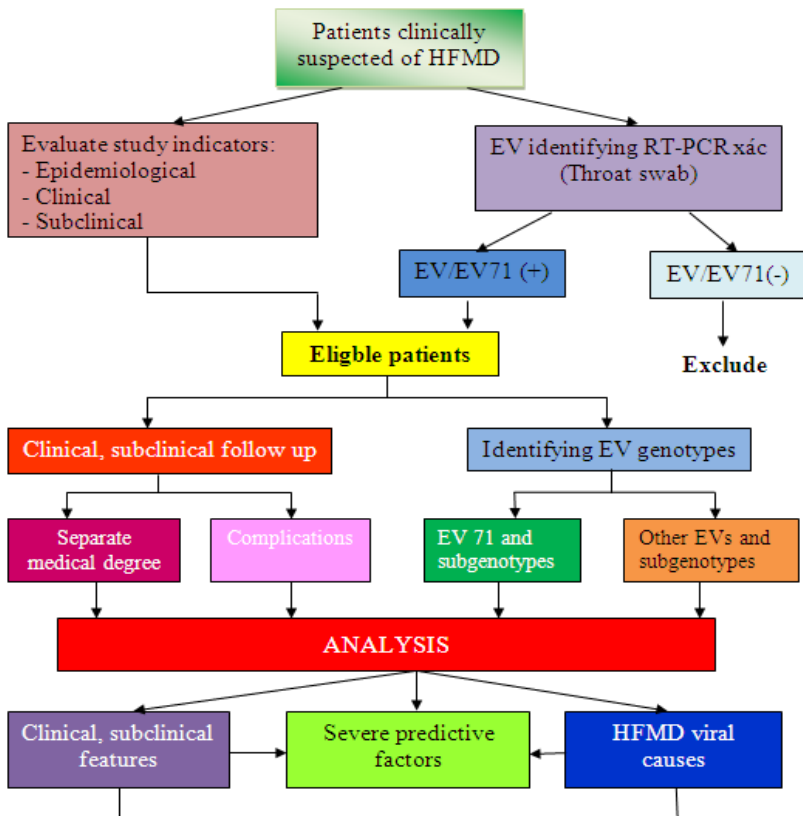


Diagram 2.1. Study procedure

2.4. Ethical consideration

The study was one part of the National level study led by the National Hospital for Tropical disease, that received the approval from the hospital IRB committee.

2.5. Data analysis

The collected data was analysed by statistic software SPSS version 18.0. Statistic threshold $p=0,05$ for all analysis tests.

2.6. Study limitation

The study was limited in hospitalized patients. The number of inpatients of the North much lower than that of the South, therefore we could not compare clinical features of the two patient groups.

CHAPTER 3: STUDY RESULTS

1170 HFMD inpatients from 50/64 provinces of the whole country eligible for the study. The results as following:

3.1. HFMD clinical and subclinical features

3.1.1. Study population information

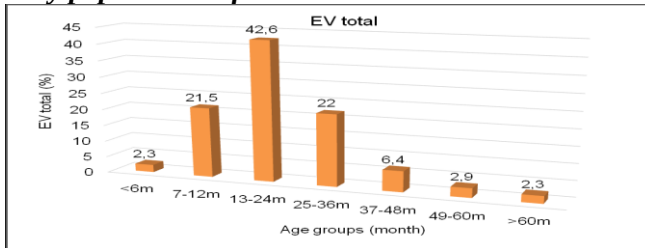


Chart 3.1. Age distribution

97,7% patients under 60 age months (5 year old), including 88,4% children from under 36 months (3 year old).

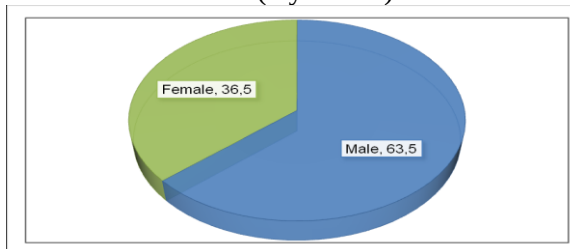


Chart 3.2. Sex distribution

The male patients took 63,5%, higher than the female (36,5%). Male/female ratio was 1,7:1.

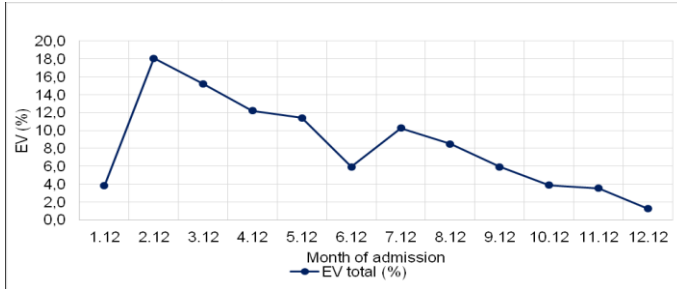


Chart 3.4. HFMD distribution at admission point during 2012

During the year 2012, HFMD patients admitted sporadically in all months, more frequently in the spring (February to April) and begin of autumn (July to September).

3.1.2. HFMD clinical features

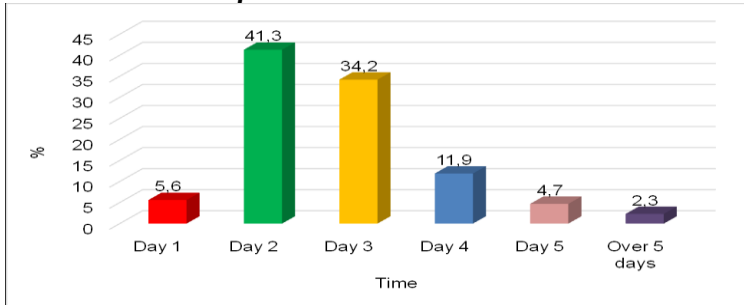


Chart 3.6. Time from clinical beginning to admission point

Most HFMD patients admitted in the first 4 days of the disease (93%).

Table 3.2. The HFMD common symptoms

Symptoms	n = 1170	%
Rash	1070	91,5
Oral ulcer	865	73,9
Fever	726	62,1
Myoclonus	601	51,4
Vomit	159	13,6
Diarhea	62	5,3

HFMD common clinical symptoms were: rash (91,5%), oral ulcer (73,9%), fever (62,1%) and myoclonus (51,4%).

Intestinal symptoms such as vomit and diarrhea took low prevalences (13,6% and 5,3%).

3.1.2.4. Clinical grade

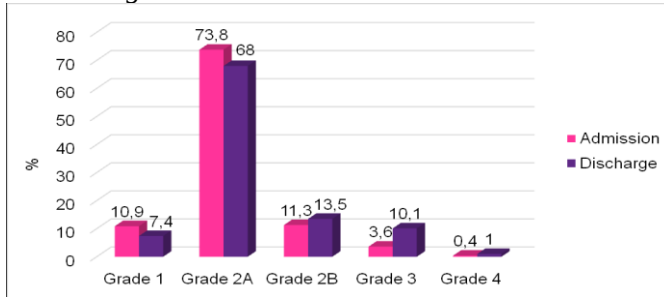


Chart 3.7. Clinical grade

Patients admitted at all 4 clinical grade, mostly at grade 2A (73,8%). 15,3% patients admitted at severe situation (at grade 2B, grade 3 or grade 4).

3.1.2.5. Clinical grade progression during admission

Table 3.4. Clinical grade progression during admission

Grade at admission	Grade to wich illness progressed (%)				
	Grade2A	Grade2B	Grade 3	Grade 4	Total
Grade 1(n=128)	41,9	1,2	5,8	0	48,9
Grade 2A(n=863)	-	7,1	4,6	0,2	11,9
Grade 2B (n=132)	-	-	25,8	1,5	27,3
Grade 3(n=42)	-	-	-	7,1	7,1

Prevalence of patients progressed to higher grade during admission from grade 1, 2A, 2B and grade 3 were 31,4%, 11,9%, 27,3% and 7,1%, respectively.

3.1.3. HFMD complications

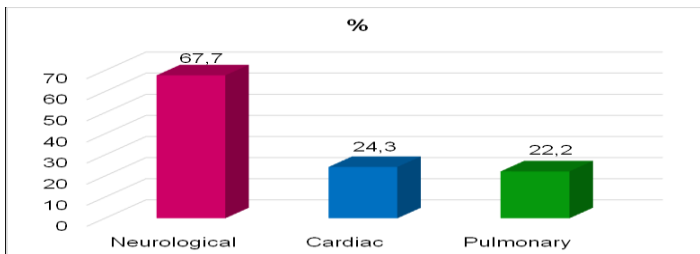


Chart 3.8. HFMD complications (n=288)

Of the total 1170 patients, 288 ones having complications (24,6%). Among that, neurological one was the most common (67,7%). Cardiac and pulmonary complications were less common, taking 24,3% and 22,2%, respectively.

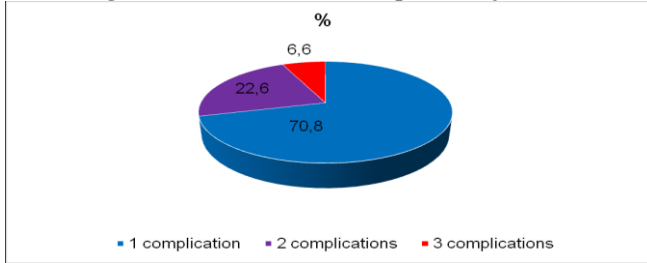


Chart 3.9. Complication prevalence

Of patients having neurological, cardiac or pulmonary complications:

- 70,8% patients having 1 complication.
- 22,6% patients having 2 of the 3 complications combined.
- 6,6% patients having all the 3 complications

3.1.4. HFMD subclinical features

3.1.4.1. Hematological test

Table 3.7. Chages in WBC, Platlet counts and VS

Indicators	Counts	n	%
WBC (n=724)	>16 000 cells/mm ³	151	20,9
	10-16000cells/mm ³	358	49,4
	<10000 cells/mm ³	215	29,7
	Median ± SD: 12613±4492 cells/mm ³ Variance: 2190- 29 950 cells/mm ³		
Platlet (n=725)	≤ 400 000 tb/mm ³	592	71,7
	>400 000 tb/mm ³	133	18,3
	Median ±SD: 323 646 ± 94 980 cells/mm ³ Variance: 41 900 – 702 000 cells/mm ³		
VS (n=124)	Increased	117	94,4
	Median ±SD: 38,3± 21,4 mm/h Variance: 2 - 264 mm/h.		

20,9% had WBC increased over 16 000 cells/mm³. 18,3% had platlet count over > 40000 cells/mm³. 94,4% had increased VS.

3.1.4.2. Biochemical test

Table 3.8. Biochemical test results

Indicators	Increased		Median	Variance
	n	%		
Glucose (mmol/l) (n=468)	101	21,6	5,6 ± 2,2	2,0 - 27,9
AST (U/L) (n=179)	58	32,4	41,3 ± 28,3	17,5 - 340
ALT (U/L) (n=179)	13	7,3	24,0 ± 30,1	6,1 - 270
CK (U/L) (n=234)	17	7,2	59,5±16	1- 1410
Troponin I (n=26)	2 cases positive, taking 7,7%			

32,4% had increased AST , 21,6% had increased glycemia

3.2. HFMD viral causes

3.2.1. RT-PCR test detecting EV71 and other EVs

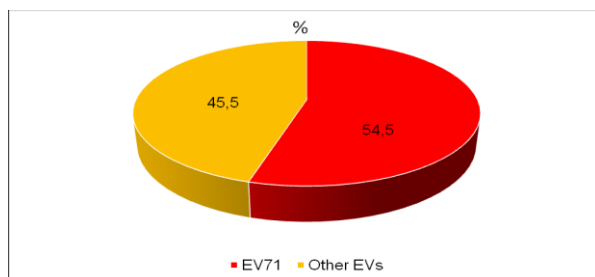


Chart 3.12. EV71 and other EVs prevalence by RT-PCR

1170 oral swab specimens were tested for EV by RT-PCR. Result was: EV71(638/1170) taking 54,5%; other EVs (532/1170) taking 45,5%.

3.2.2. Result of sequencing test

3.2.2.1. Identifying HFMD causing EV subgroups

Table 3.12. Prevalence of EV subgroups

EV groups	n	%
EV 71	484	68,2
Coxsackievirus	179	25,2
Echovirus	15	2,1
Other EV groups	32	4,5
Total	710	100

EV71 and Coxsackievirus were 2 main causes of HFMD. Besides, Echovirus and other EVs also presented in the study.

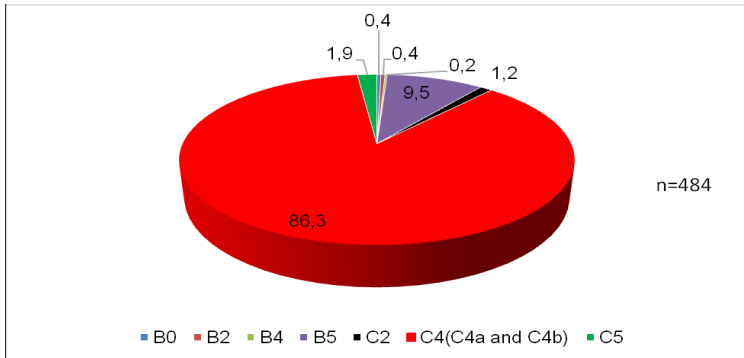


Chart 3.13. EV71 subgenotypes prevalence

Of all EV71 cases, C genogroup identified including subgenotypes C2, C4, C5, with C4 subgenotype (including C4A and C4B) was at highest prevalence (86,3%). EV71 genogroup B included B0, B2, B4, B5 subgenotypes, with B5 subgenotypes was at highest (9,5%), the rest took only from 0,2% to 1,9%.

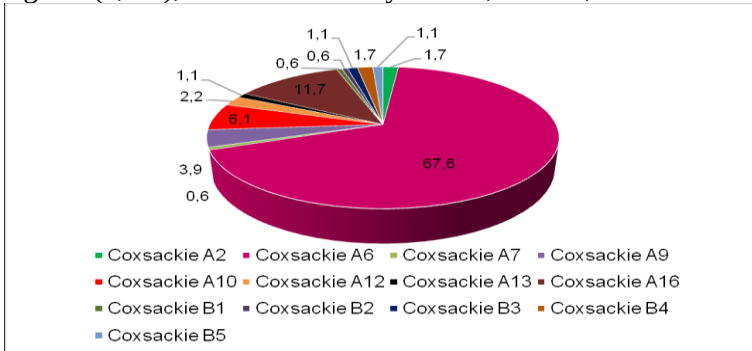


Chart 3.14. Coxsackievirus subgenotypes prevalence

HFMD causing Coxsackievirusé included Coxsackievirus subgroup A (2,6,7,9,10,13,16) and Coxsackievirus subgroup B (1,2,3,4,5). Of that, Coxsackie A6 was the most common (67,6%), followed by Coxsackie A16 (11,7%), then Coxsackie A10 with 6,1%.

3.2.2.2. EV main subgenotypes causing HFMD

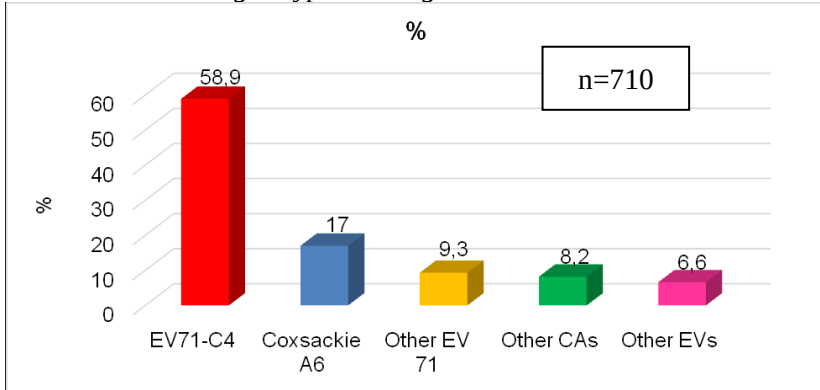


Chart 3.15. EV main subgenotypes causing HFMD

Of the total 710 specimens successfully done sequencing test for EV subgenotypes, EV71-C4 subgenotypes taking 58,9% and Coxsackie A6 taking 17% were defined as 2 main EV subgenotypes causing HFMD in Vietnam.

3.3. HFMD predictive factors

3.3.1. Clinical symptoms associated with the disease severity.

The multivariate analysis showed the following factors associated with the disease severity: myoclonus, not oral ulcer, high fever over 38,5°C with $p < 0,05$ and OR were 4,4(95%CI 3,2-6,1); 2,2(95%CI 1,6-3,0) and 2,7(95%CI 2,1-3,8), respectively.

3.3.2. Subclinical changes associated with the disease severity

The analysis on hematological indicators showed that proportion of HFMD patients having platelet counts over 400 000 cells/mm³ and WBC over 16000 cells/mm³ in severe group were significantly higher than that in not severe group with $p < 0,05$ and OR were 2,2(95%CI 1,5-3,3) and 1,5(95%CI 1,1-2,2), respectively.

The analysis on biochemical indicators showed that proportions of HFMD patients having increased AST and hyperglycemia in severe group were significantly higher than that in not severe group with $p < 0,05$ and OR were 2,4(95%CI 1,2-4,7) and 2,9(95%CI 1,8-4,6), respectively.

3.3.3. Causal virus associated with the disease severity and complications

Analysis on EV71 and other EVs patient groups showed that the proportion of severity and complication were significantly higher in the former group with $p < 0,05$ and $OR = 2,2$ (95%CI 1,6-2,9)

Proportions of neurological, pulmonary and cardiac complication in EV71 patients groups were significantly higher than that in other EVs group with $p < 0,05$ and OR were 1,9 (95%CI 1,4-2,6) ; 2,5(95%CI 1,4-4,4) and 1,9(95%CI 1,1-3,2), significantly .

Analysis on genogroup B and genogroup C of EV71 showed that severity proportion in EV71 genogroup C was significantly higher than that in genogroup B with $p < 0,05$ and $OR = 4,5$ (95%CI 1,9-8,7). Proportion of patients having neurological complication in genogroup C was 25,6%, significantly higher than 2,0 % in genogroup B ($p < 0,05$). 7,2% patients in genogroup C had pulmonary complication while there weren't any patients having this complication in genogroup B.

Analysis on EV71-C4 and CA6 patient groups showed that the severity proportion in the EV71-C4 patient group was higher than that in CA6 group. The difference was significant with $p < 0,05$ and $OR = 6,2$ (95%CI 3,2-9,9). The proportions of neurological, pulmonary and cardiac complications among EV71-C4 infected patients was significantly higher than that of CA6 infected patients with $p < 0,05$ and OR were 4,4(95%CI 2,2-9,0) ; 6,8(95%CI 2,2-9,0) and 5,4(95%CI (1,3-10,0), respectively.

CHAPTER 4: DISCUSSION

4.1. HFMD clinical, subclinical features and prognosis

4.1.1. Study population information

4.1.1.1. Age distribution

Result from the chart 3.1 showed that most admitted patients (97,7%) were from under 5 year old (60 months), including 88,4% among them from under 3 year old (36 months). Our result was

equivalent to that of Phan Văn Tú' study in the South of Vietnam in 2005 as well as previous studies in other countries in the area.

4.1.1.2. Sex distribution

In this study, HFMD male patients proportion was 63,5%, significantly higher than that of female patients (36,5%) (chart 3.2). Male/female ratio was 1,7:1. Study of Trương Hữu Khanh in the year 2011 also had similar result with 62% male patients.

4.1.1.4. Disease distribution at admission point during the year 2012

It was shown that HFMD cases admitted sporadically in all months of the year 2012, at 2 peaks being in the spring (February to April) then in the begin of the autumn (July to September), then decreased to the end of the year. Jin-feng Wang and colleagues found a significant association between the climate and HFMD occurrence. Our result was similar to that of the study conducted by Phan Văn Tú showing the number of HFMD admitted cases was highest in the February and March of the year.

4.1.2. Clinical features

4.1.2.2. Time from clinical beginning to admission point

Most patients (93%) admitted in the first 4 days of the disease. The result showed that HFMD progressed rapidly, therefore media education was necessary to recommend parents to follow up ill children carefully and transfer them to hospital timely.

4.1.2.3. Clinical symptoms and progression

HFMD clinical common symptoms were skin rash taking the highest proportion (91,5%), followed by oral ulcer (73,9%). Fever was the third with 62,1%. The result was suitable to MOH definition on HFMD wich may or may not have fever. Besides, HFMD patients had intestinal symptoms such as vomit taking 13,6% and diarrhea taking 5,3%.

Studying on clinical symptom progression, we found that HFMD symptoms occurred early. Most symptoms occurred during

the first 3 days of the disease, even more than 50% patients presented fever, oral ulcer and rash on the first day of the disease. These were clinical symptoms that help the disease early diagnosis.

- In the study, myoclonus was at the proportion of 51,4%. This prevalence was lower than that of previous studies conducted in the Pediatric Hospital 1(74,5%). The difference may be due to different inclusion criteria and study sites. The result showed that myoclonus was one earliest neurological sign in HFMD and was an important one that helps physicians to diagnose the disease and follow up patients to early detect severe situation.

4.1.2.4. Clinical grade progression during admission

The clinical grade proportions at admission point composed Grade 1 with 10,3%, grade 2A with 73,8%, grade 2B with 11,3%, grade 3 with 3,6% and grade 4 with only 0,4%. Truong Huu Khanh conducting a study on HFMD at Pediatric Hospital 1 in the year 2011 also reported similar results with proportions respectively of 17,73,9,1 and 0,4%. Proportions of clinical grades progressed from grade 1, grade 2A, 2B and grade 3 during hospitalizations were respectively 31,4%, 11,9%, 27,3% and 7,1%, also similar to the study of Truong Huu Khanh. This showed that HFMD patients should be followed up carefully during admission to be detected early severe progression and be timely managed.

4.1.3. The disease complications

288 among total 1170 patients (24,6%) being at grade 2b and more and having severe signs were divided into neurological, cardiac and pulmonary complication groups. Among that groups, neurological one took the highest prevalence with 67,7%. Our result was equivalent to that of other authors in the country and area, showing that neurological complication was predominant in HFMD. Pulmonary and cardiac complications were less common with the respectively proportions of 22,2% and 24,3%. Some authors suggested that in HFMD neurological lesions were at brain stem,

cardiac pulmonary center, therefore cardiac and pulmonary complications often followed neurological complications and were consequence of brain stem damages. However, the mechanism has been clear until now. We also found that patients could have combinations of neurological, cardiac and pulmonary complications.

4.1.4. Subclinical features

4.1.4.1. Hematological test

The blood formula results showed that over 50% patients had WBC counts increased to more than 10 000 cells/mm³. Analysing WBC counts according to clinical grades, it was found that the proportions of patients having WBC counts increased to more than 16000 cells/mm³ in groups of clinical grade 2B and more were higher than that in groups of clinical grade 1 and 2A. Doan Thi Ngoc Diep and Li also saw that in HFMD patient severe group WBC counts were often highly increased. Even Jiahua in a HFMD study in the year 2012 showed that WBC counts of over 17 000 cells/mm³ was one severe predictor. Like with WBC, our study also showed that the patients having platelet counts over 400 000 cells/mm³ seen in group of clinical grade 2B and more with higher proportion as compared to that in group of grade 1 và 2A. These are indicators to be analysed for severe predictive factors.

4.1.4.2. Biochemical test (table 3.8)

Our study showed that proportion of patients having hyperglycemia was 21,6% and increase AST was 32,4% while only 7,3% patients having increased ALT. Patients having increased CK took 7,2%. AST may be increased in liver injury and also in myocardial injury. Therefore it is necessary to have more study on the mechanism of increased AST in HFMD.

4.2. HFMD viral causes

4.2.1. RT-PCR test detecting EV71 and other EVs

Of the total 1170 patients identified as EV infected by RT-PCR test, 638 ones positive with EV71 (taking 54,5%), 532 others were identified as other EVs infected (chiếm 45,5%) (chart 3.12). The result was equivalent to other studies in the area, showing that EV71 was the common cause in HFMD epidemics. When comparing to other datas in Vietnam, we found that previous reports on EV71 were often sporadically concentrated in some provinces. Our study may be one first and complete report on EV and EV71 infection in HFMD patients in the whole country.

4.2.2. Sequencing test detecting EV subgenotypes causing HFMD

It was showed that main enteroviruses causing HFMD in Vietnam composed EV71 at highest prevalence, followed by Coxsackievirus, Echovirus and other EVs.

Sequencing test to identify EV71 subgenotypes found that C4 subgenotype was predominant (86,3%), followed by B5 subgenotypes (9,5%). Lê Phan Kim Thoa in a HFMD study conducted in the South of Vietnam in 2011 also reported that EV71-C4 subgenotype took 94% of EV71 infected cases.

Sequencing test identified also Coxsackievirus A and B subgroups as HFMD viral causes in Vietnam. Among that, CA6 subgenotype was predominant (67,6%), followed by CA16 (11,7%). This is new point of the study because CA16 used to be reported as one most common cause of HFMD in previous studies in Vietnam. This result however was equivalent to HFMD conducted by Tsuguto in Japan in the year 2011, reporting CA6 subgenotype as HFMD predominant cause. That reflected the diversity of HFMD viral causes during different time periods.

4.3. HFMD predictive factors

4.3.1. Clinically

The multivariate analysis showed that clinical symptoms associated to the disease severity were high fever at $> 38,5^{\circ}\text{C}$

(OR=2,72), myoclonus (OR= 4,4) and no oral ulcer (OR=2,2), with $p < 0,05$. The result was similar to previous studies conducted in the country and abroad as in China and Malaysia and provided more evidence for MOH guideline on HFMD, in that ill children with high fever at $\geq 39^{\circ}\text{C}$ were graded at 2A and should be admitted for taking care. Studies by Phan Van Tu (2005) and by Trương Thị Triết Ngu (2007) reported that children having oral ulcers had more ability of Coxsackievirus infection than of EV71 infection so their clinical situations therefore were less severe. Besides, the study showed that not all patients having myoclonus at beginning developed to severe situation and neurological complication. MOH guideline classified patients at clinical grade 2B and more when patients presented myoclonus during examination with frequency of 2 times or more in 30 minutes. So physicians during clinical examination should not only detect myoclonus but also its frequency to identify neurological complication and severe situation in order to it timely control.

4.3.2. Subclinical

Analysis on association between hematological indicators and the disease severity showed that WBC counts $> 16000 \text{ cells/mm}^3$ and platelet counts $> 400\,000 \text{ cells/mm}^3$ were severity predictive factors. This result was similar to previous studies in the area. May be the WBC and platelet counts increasing related to inflammatory reaction in HFMD. The more severe situation, the more inflammation was and the more WBC and platelet counts increased.

Analysis on the association between biochemical indicators and the disease severity showed that increased AST and hyperglycemia were severity predictive factors. Glycemia increased in severe patients may due to inflammatory mechanism in that catecholamin increased as the result of autonomic nervous system disorders. AST not only increased in liver injury but also in myocardial injury. Was AST increasing an indicator of myocardial injury in HFMD? This

issue need more studies. However, the above results would help physicians to prognose for timely management and reducing the mortality.

4.3.3. Viral causes

It was found that EV71 patient group had severe case as well as neurological, cardiac and pulmonary complication proportion higher than that of other EVs patient group. Wang and colleagues studying in Shenzhen (China) reported that all severe cases in 2009 were infected by EV71. The result was similar to HFMD epidemic finding in 2011 in Vietnam. It was shown that patients in EV71 genogroup C had higher incidence of severe case and neurological, cardiac and pulmonary complications as compared to EV71 genogroup B patients. This was a new point of our study because there haven't been any reports in Vietnam on comparison between EV71 genogroup B and genogroup C clinical features. Proportions of severe cases and complications in EV71-C4 infected group were higher than that in CA6 infected group. The result showed that in the HFMD epidemic in Vietnam in 2012, EV71 subgenotype C4 was the main cause of severe cases. This was similar to previous reports in the country and area on HFMD epidemiology and on EV71 including C4 pathogenicity. The above result provided more important epidemiological and clinical information, helping high risk causal viruses selection for the vaccin development studies.

CONCLUSION

1. HFMD clinical, subclinical features in Vietnam

- The disease occurred in the whole year, at peak in the spring (Feb-Apr) and at the begin of autumn (Jul- Sep), mostly in children from under 5 year old (97,7%) including 88,4% of under 3 year old. Male patients were predominant (63,5%). Male/female ratio was 1,7:1.

- Most patients admitted in the first 4 days of the disease (93%). Common clinical signs: erythema (91,5%); oral ulcer (73,9%); fever (62,1%); myoclonus (51,4%); vomit (13,6%), diarrhea (5,3%).

- Prevalence of patients progressed to higher grade during admission from grade 1, 2A, 2B and grade 3 were 31,4%, 11,9%, 27,3% and 7,1%, respectively

- 24,6% patients had complications including neurological, cardiac and pulmonary ones. Among them:

- + Neurological complication most common (67,7%), followed by cardiac (24,3%) and pulmonary ones (22%).
- + 70,8% presented one complication, 22,8% with 2 combined complications and 6,6% had all 3 ones.

- Blood test:

- + Hematological: increased WBC (20,9% over 16 000 cells/mm³), increased VS (94,4%),
- + Biochemical: increased AST (32,4%), hyperglycemia (21,6%).

2. HFMD viral causes

- *Result from RT-PCR test to detect EVs:* EV71 took 54,5%, other EVs took 45,5%.

- *Result from sequencing test to detect EV subgenotypes:*

+ Main EV groups causing HFMD: EV71(68,2%), Coxsackievirus (25,2%), Echovirus (2,1%) and other EVs (4,5%).

- EV71 included genogroup C (C4, C2 và C5) and genogroup B (B0, B2, B4, B5). Among that EV71-C4 subgenotype was predominant (86,3%), followed by B5 subgenotype (9,5%).
- Coxsackieviruses included A and B subgroups. Among that, Coxsackie A6 was predominant (67,6%), followed by Coxsackie A16 (11,7%) and Coxsackie A10 (6,1%).

+ 2 main EV subgenotypes causing HFMD: EV71-C4 (58,9%) and Coxsackie A6 (17%).

3. HFMD predictive factors

Severity predictive factors included:

- **Clinical:** high fever over 38,5°C (OR=2,7), myoclonus (OR=4,4) and oral not ulcer (OR=2,2), with $p < 0,05$.
- **Subclinical:**
 - + *Hematological:* Platelet count over 400 000 cells/mm³ (OR=2,2), WBC count over 16 000 cells/mm³ (OR=1,5)
 - + *Biochemical :* increased AST (OR=2,4) and hyperglycemie (OR=2,9), with $p < 0,05$.
- **Causal virus:** The proportions of severe and complicated patients were higher in :
 - + EV71 infected group compared to other EVs infected
 - + EV71 genogroup C compared to genogroup B
 - + EV71- C4 subgenotypes compared to CA6 subgenotype
 The difference was significant with $p < 0,05$ and $OR > 1$.

RECOMMENDATIONS

1. To add the severity predictive factors to the HFMD diagnosis and management.
2. To select EV71-C4 subgenotype as candidate for HFMD vaccin development.